



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU (PKOS) KADINLARDA PLAZMA
NETRİN-1 DÜZEYİNİN İNSÜLİN DİRENCİ VE OKSİDATİF STRES
İLE İLİŞKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. FÜSUN YÜKSEL**

**DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM VEYSEL FENKÇİ**

DENİZLİ 2021



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU (PKOS) KADINLARDA PLAZMA
NETRİN-1 DÜZEYİNİN İNSÜLİN DİRENCİ VE OKSİDATİF STRES
İLE İLİŞKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. FÜSUN YÜKSEL**

**DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM VEYSEL FENKÇİ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 15-04-2021/26 tarih ve 2021TIPF010 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ 2021

TEŞEKKÜRLER

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak sunduğum bu çalışmam Covid-19 Pandemisi esnasında hazırlanmıştır. Bu süreçte özveri ile çalışan tüm sağlık çalışanlarına ve sağlık şehitlerine minnetlerimi sunuyorum.

Türk kadınlarına; bilime, eğitime ve gençliğe her zaman güvenen Ulu Önder Mustafa Kemal ATATÜRK'ü minnet, saygı ve özlemlerle anıyorum.

Tez hazırlama sürecimde bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, değerlendirme ve analiz kısmında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. İ. Veysel FENKÇİ'ye teşekkür ediyorum. Ayrıca tez hazırlama sürecimin başından itibaren her konuda destek olan Dr. Öğr. Üyesi Ümit ÇABUŞ'a teşekkürü borç bilirim.

İlgisi ve alakası ile tezimin çalışılması esnasında büyük emekleri olan Doç. Dr. Rukiye Nar'a ve asistanları Dr. Hasan ve Dr. Saadet'e yardımları için teşekkür ederim.

Zorlu bir eğitim olan Kadın Hastalıkları ve Doğum asistanlığım boyunca örnek aldığım, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum Prof. Dr. M. Babür KALELİ'ye, Prof. Dr. Erkan Alataş'a, Prof. Dr. Özer ÖZTEKİN'e, Prof. Dr. Ö. Tolga GÜLER'e, Doç. Dr. Cihan KABUKÇU'ya, Doç. Dr. Derya KILIÇ'a, Dr. Öğr. Üyesi Özlem KOŞAR CAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Soner GÖK'e en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Hekimlik ekip işidir. Ekip ruhunu ve dayanışmayı paylaştığım asistan doktor arkadaşlarım Ekrem Çiftçi, Mübetcel Ocak Turgut, Gülşah Çetindarı Demirci, Ertan Karaman, Deniz Aydın Ceylan, Mert Erdemir, Ayşenur Akkoç, Mesut Özer, İbrahim Atıcı, Nilda Nalbant ve Zeynep Karatay'a; servis-doğumhane-ameliyathane-poliklinik-tüp bebek hemşire, sekreter ve personellerine hep birlikte oluşturduğumuz aile ortamından dolayı teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sırtımı güvenle yasladığım, her zaman ve her koşulda desteğim olan annem Gülşen Arslan'a, abim Fırat Yüksel'e, babam Hüseyin Yüksel'e; eğitimim süresince hasret kaldığım küçük kardeşlerim İrmak ve Ufuk Barış'a; nöbet dönüşleri yollarımı gözleyen can yoldaşı oğullarım Pamir ve Melül'e; her süreçte moralimi ve motivasyonumu yükselten arkadaşlarım Buket Baysal'a, Dr. Zeynep Ünlütürk'e; Denizli'de ailem olan Melek, Mehmet ve Çağlar'a varlıklarından dolayı teşekkür ederim.

"Çocuklar, insanlar size kirazın kurdunun nasıl oluştuğunu bile sorarlar, her şeyi bilmelisiniz." (1)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY	XII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS).....	5
2.1.1-Tanım ve Tarihçe:.....	5
2.1.2-Prevelans:	10
2.1.3- Etyopatogenezi:.....	10
2.1.4-Klinik Bulgular:.....	15
2.1.5- Uzun Dönem Sonuçlar.....	19
2.1.7-Ayırıcı Tanı:	26
2.1.8-Laboratuvar:	26
2.1.9-Tedavi.....	27
2.2 NETRİNLER.....	32
2.3 OKSİDATİF STRES	37
2.3.1. Serbest Radikaller:.....	38
2.3.2.Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS):.....	40
2.3.3. Serbest Radikallerin Etkileri:	43
2.3.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları:	47
3. MATERYAL METOD	58
4. BULGULAR.....	61
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ.....	70
KAYNAKÇA.....	71

KISALTMALAR DİZİNİ

PKOS	: Polikistik Over Sendromu
PKOM	: Polikistik Over Morfolojisi
ESHRE	: European Society of Human Reproduction and Embriology
ASMR	: American Society of Reproductive Medicine
AES	: Androgen Excess Society
NIH	: National Institutes of Health
GWA	: Genome-Wide Association
WHO	: World Health Organization
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
DM	: Diabetes Mellitus
HT	: Hipertansiyon
GnRH	: Gonadotrophin Releasing Hormone
LH	: Luteinizing Hormone
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
GH	: Growth Hormone
ACTH	: Adrenocorticotropic Hormone
HCG	: Human Chorionic Gonadotropin
IGF	: İnsulin-Like Growth Factor
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
IR	: Insulin Resistance
HOMA-IR	: Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
AKŞ	: Açlık kan şekeri
IL	: İnterlökin
HDL	: High-Density Lipoprotein

LDL	: Low-Density Lipoprotein
SHBG	: Sex Hormone Binding Globulin
DHEA-S	: Dehidroepiandrosteron Sülfat
CRP	: C-Reaktif Protein
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophosphate
CAM	: Sellüler Adezyon Molekülleri
KCFT	: Karaciğer fonksiyon testleri
MYO	: myo-inositol
DCI	: d-chiro-inositol
OHSS	: Ovarian Hyperstimulation Syndrome
IVF	: In Vitro Fertilization
gpi	: Glukozilfosfatidilinozitol
DCC	: Deleted in Colorectal Cancer
DSCAM	: Down Sendromu hücre adezyon molekülü
LPS	: Lipopolisakkarit
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
COX	: Siklooksijenaz
ROS	: Reactive Oxygen Species
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik Oksit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
NAD	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
FAD	: Flavin Adenine Dinucleotide
CAT	: Katalaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. PKOS'da folikül maturasyon duraklaması.....	12
Şekil 2. PKOS – İnsülin Sinyal Defektleri.....	14
Şekil 3-PKOS'da Metforminin Etkileri	31
Şekil 4- Netrin-1 Yolakları.....	35
Şekil 5-Lipid Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu.....	44

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.Konsensusların PKOS tanı kriterleri ve PKOS fenotipleri	10
Tablo 2-PKOS'ta Aday Genler	16
Tablo 3- WHO Obezite Sınıflandırması	19
Tablo 4- Netrin-1 Etki Mekanizması	36
Tablo 5- MDA Oluşumu.....	37
Tablo 6-Grupların olgulara göre dağılımı	61
Tablo 7- PKOS ve Kontrol Grubu Karşılaştırması	61
Tablo 8-Parametreler arasında korelasyon sonuçlarına göre.....	62
Tablo 9-Netrin-1 Konsantrasyonuna göre Bağımlı Değişkenler	64
Tablo 10-İnsülin Direncine Göre Grup Dağılımı	64
Tablo 11- Homogeneous Subsets.....	65

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1-Normal Over ve Polikistik Over	1
Resim 2-Polikistik Over Ultrason Görüntüsü	8
Resim 3-Ferriman-Gallwey Skorlama Sistemi.....	17
Resim 4- Netrin Reseptörleri.....	33
Resim 5-Antioksidanların Serbest Radikallere Elektron Transportu	38
Resim 6- Serbest Oksijen Radikalleri.....	40

ÖZET

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU (PKOS) KADINLARDA PLAZMA NETRİN-1 DÜZEYİNİN İNSÜLİN DİRENCİ VE OKSİDATİF STRES İLE İLİŞKİSİ

Amaç: Polikistik over sendromunda görülen hiperandrojenemi, insülin rezistansı ve oksidatif stres uzun dönemde vaskülo-endotelyal hasara neden olur. Netrin-1'in endotelyal ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yaptığı da bilinmektedir. Bu çalışmadaki amacımız polikistik over sendromlu hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında Netrin-1, malondialdehit, glutasyon, nitrik oksit düzeylerini belirleyerek bu markerların PKOS'taki vaskülo-endotelyal hasarın bir belirteci olup olmayacağını göstermektir.

Gereç ve Yöntem: Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekoloji Polikliniği'ne Kasım 2020-Mayıs 2021 tarihlerinde başvuran ve Rotterdam Kriterlerine göre PKOS tanısı konan, son 6 ay içinde herhangi bir nedenle steroid veya seks hormon tedavisi almamış olan üreme çağındaki 18-38 yaş arası kadın hastalar hasta grubu olarak belirlendi. Her hangi bir endokrinolojik hastalığı bulunmayan, Rotterdam Kriterlerini karşılamayan, son 6 ay içinde herhangi bir nedenle steroid veya seks hormon tedavisi almamış olan üreme çağındaki 18-38 yaş arası kadın hastalar kontrol grubu olarak belirlendi ve çalışmaya dâhil edildi.

Referans çalışma doğrultusunda yapılan güç analizinde, iki grup arasındaki farkın etki büyüklüğünün kuvvetli düzeyde olduğu ($d=0.95$) görülmüştür. Daha düşük düzeyde de bir etki büyüklüğü elde edilebileceği de düşünülerek yapılan güç analizi sonucunda, kuvvetli düzeyde bir etki büyüklüğü değeri için ($d=0.65$) çalışmaya en az 60 kişi (her grup için en az 30 kişi) alınırsa %95 güven düzeyinde ve %80 güç düzeyinde olacağı hesaplanmıştır.

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman ya da Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelendi. Tüm istatistiklerde p anlamlılık değeri 0,05 olarak alındı.

Hastaların jinekolojik pelvik muayene ve ultrasonografik pelvik değerlendirilmeleri yapıldı. Boy, kilo, vücut kitle indeksi ve bel çevresi gibi antropometrik ölçümleri yapıldı. Ayrıca hastalar, hirsutizmin klinik seviye belirleme skorlama sistemi olan Ferriman-Gallwey Skorlaması ile değerlendirildi. Menstrüel siklusun 2. veya 3. günlerinde Folikül Stimulan Hormon (FSH), Lüteinizan Hormon (LH), Estradiol (E2), Prolaktin (PRL), Tiroid Stimulan Hormon (TSH), Total testosteron (TT), Seks Hormon Bağlayıcı Globülin (SHBG), Dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S), açlık kan şekeri, insülin ve Anti-Müllerian Hormon (AMH) değerleri görüldü. Hastalardan alınan serum örneklerinden plazma Netrin-1 ve oksidatif stres belirteci olarak da Nitrik Oksit (NO) ve Malondialdehit (MDA) seviyeleri ile antioksidan belirteç olarak Glutasyon seviyeleri Elisa yöntemi ile belirlendi. Son 6 ay içinde hormon replasman tedavisi almış olan veya ek endokrinolojik bozukluğu olan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi.

Bulgular ve sonuç: Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekoloji Polikliniği'nde yapılan bu klinik çalışmaya PKOS tanısı almış 36 hasta ile kontrol grubunda yer alan 32 sağlıklı olgu dâhil edildi. Çalışmaya alınan toplam olgu sayısı 68 idi. Çalışmamız sonucunda hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırmasında netrin-1 (2420.76 ± 282.26 vs. 2739.50 ± 258.69 $p:0.408$), MDA (31.77 ± 4.29 vs. 40.91 ± 4.43 $p:0.144$), glutasyon (15.15 ± 1.05 vs. 13.13 ± 0.91 $p:0.154$), NO (290.91 ± 36.37 vs. 297.81 ± 32.29 $p 0.888$) seviyeleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. PKOS patofizyolojisindeki rolünü anlamak için PKOS fenotipleri ve hasta alt gruplarını daha geniş bir şekilde değerlendirecek yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Polikistik Over Sendromu, İnsülin Direnci, Netrin-1 Proteini, Oksidatif Stres, MDA, NO, Glutasyon

SUMMARY

THE RELATIONSHIP OF PLASMA NETRIN-1 LEVEL WITH INSULIN RESISTANCE AND OXIDATIVE STRESS IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME (PCOS)

Aim: Hyperandrogenemia, insulin resistance and oxidative stress seen in polycystic ovary syndrome cause vasculo-endothelial damage in the long term. It is also known that netrin-1 functions as a regulator in the morphogenesis of endothelial and vascular smooth muscle cells and inflammation. Our aim in this study is to determine Netrin-1, malondialdehyde, glutathione, nitric oxide levels between patients with polycystic ovary syndrome and healthy control group and to show whether these markers will be a marker of vasculo-endothelial damage in PCOS.

Material and Methods: A woman of reproductive age, aged 18-38, who applied to Pamukkale University Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Gynecology Polyclinic between November 2020 and May 2021 and was diagnosed with PCOS according to the Rotterdam Criteria, and had not received steroid or sex hormone treatment in the last 6 months for any reason. The patients were determined as the patient group. Female patients aged 18-38 years of reproductive age, who did not have any endocrinological disease, did not meet the Rotterdam Criteria, and had not received steroid or sex hormone therapy for any reason in the last 6 months, were determined as the control group and included in the study.

In the power analysis conducted in line with the reference study, it was observed that the effect size of the difference between the two groups was at a strong level ($d=0.95$). As a result of the power analysis carried out considering that a lower level of effect size can be obtained, for a strong effect size value ($d=0.65$), if at least 60 people (at least 30 for each group) are included in the study, 95% confidence level and 80% power will be calculated.

The data were analyzed with the SPSS package program. Continuous variables were given as mean \pm standard deviation, and categorical variables as numbers and percentages. Test of Significance of Difference Between Two Means in comparison of independent group differences when parametric test assumptions are met; When parametric test assumptions were not met, the Mann-Whitney U test was used to

compare independent group differences. In addition, the relations between continuous variables Spearman or Pearson correlation analyzes and the differences between categorical variables were analyzed by Chi-square analysis. The p significance value was taken as 0.05 in all statistics.

Gynecological pelvic examination and ultrasonographic pelvic evaluations of the patients were performed. Anthropometric measurements such as height, weight, body mass index and waist circumference were performed. In addition, patients were evaluated with the Ferriman-Gallwey Scoring, which is the clinical leveling scoring system of hirsutism. On the 2nd or 3rd days of the menstrual cycle, Follicle Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), Estradiol (E2), Prolactin (PRL), Thyroid Stimulating Hormone (TSH), Total testosterone (TT), Sex Hormone Binding Globulin (SHBG), Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), fasting blood sugar, insulin and Anti-Müllerian Hormone (AMH) values were observed. Plasma Netrin-1, Nitric Oxide (NO) and Malondialdehyde (MDA) levels as an oxidative stress marker and Glutathione levels as an antioxidant marker were determined by Elisa method from serum samples taken from the patients. Patients who had received hormone replacement therapy in the last 6 months or had additional endocrinological disorders were not included in the study.

Results and Conclusion: In Pamukkale University Gynecology and Obstetrics Department Gynecology Polyclinic, this clinic is 36 patients with PCOS and 32 healthy patients who were controlled. The total number of cases included in the study was 68. As a result of our study, netrin-1 (2420.76 ± 282.26 vs. 2739.50 ± 258.69 p:0.408), MDA (31.77 ± 4.29 vs. 40.91 ± 4.43 p:0.144), glutathione (15.15 ± 1.05 vs. 13.13 ± 0.91) were compared between the patient group and the control group. p:0.154), NO (290.91 ± 36.37 vs. 297.81 ± 32.29 p 0.888) levels were not found to be significantly different. Further studies that will evaluate PCOS phenotypes and patient subgroups more broadly are needed to understand their role in PCOS pathophysiology.

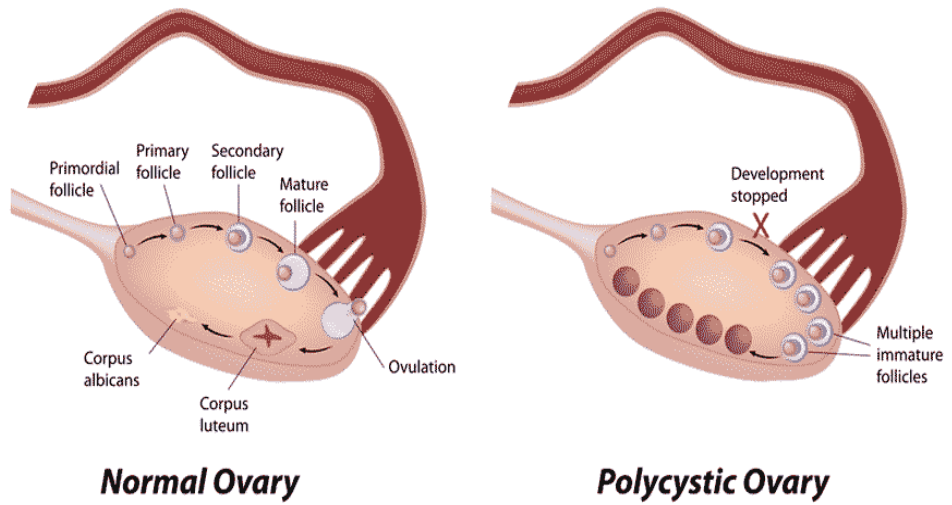
Key Words: Polycystic Ovary Syndrome, Insulin Resistance, Netrin-1 Protein, Oxidative Stress, MDA, NO, Glutathion

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Polikistik Over Sendromu (PKOS), etnik farklılıklar göstermekle beraber reproduktif çağdaki kadınların %10-13'ünü etkileyen, üreme çağının herhangi bir döneminde ortaya çıkabilen, kronik seyirli, oligo-ovulasyon veya anovulasyon, androjen fazlalığı semptomları ve ultrasonografik olarak çok sayıda ovaryan kistlerle ilişkili metabolik ve psikolojik etkileri olan önemli ve karmaşık bir sağlık sorunudur. (2; 3; 4).

İlk kez 1935 yılında Dr. Stein ve Dr. Leventhal tarafından amenore, hirsutizm ve obezite triadı olarak tanımlanmıştır (4).

Bugünkü literatür ışığında PKOS'u tanımlamak için kullanılan temel özellikler olan androjen fazlalığı, kronik oligo-anovulasyon ve polikistik over morfolojisi (PKOM), over disfonksiyonunu işaret etmektedir (Resim 1). PKOS'daki over disfonksiyonu patofizyolojisi hem teka ve granüloza hücre fonksiyonu hem de follikülogenezdeki değişiklikleri içermektedir. PKOS'lu kadınların overleri normalden daha fazla antral follikül içerir, böylelikle bu sayıca fazla antral folliküller polikistik morfolojiyi meydana getirir. Bu overler aynı zamanda fazla sayıda teka hücrelerine de sahiptir. Teka hücrelerinde artmış 17 α -hidroksilaz ve 17,20 liyaz enzim aktivitesi androjen sekresyon disregülasyonu meydana getirmekte ve bu durum PKOS olan kadınların çoğunda androjen fazlalığına neden olmaktadır (5).



Resim 1-Normal Over ve Polikistik Over

PKOS patofizyolojisi günümüzde tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, muhtemel risk faktörlerinin, insülin direnci, hiperandrojenemi, dislipidemi olduğu düşünülmektedir (6). Patofizyolojideki en temel noktalar; hipotalamik-pitüiter-gonadal aksın bozulması, insülin direnci ve hiperinsülinemi, ovaryen steroidogenezin bozulması, adrenal steroidogenez anormallikleri ve genetik faktörler olarak sayılabilir. Diabetes mellitus (DM) ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi uzun dönem sağlık sorunları ile ilişkisi olan PKOS'un patofizyolojisinin net anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) pulsatil salınımı genellikle PKOS'da bozulmakta, bu da hipofiz bezi tarafından luteinize edici hormon (LH) hipersekresyonu ile sonuçlanmaktadır. Bu durum ovulatuvar disfonksiyonu ve over teka hücrelerinden androjen sekresyonunu uyararak hiperandrojenizmi indüklemektedir. Bozulmuş LH sekresyonu erken ergenlik döneminde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, progesteronun hipotalamik-hipofizer aksta gonadotropin salgılatıcı hormon pulsasyon frekansı üzerindeki inhibe edici etkilerine direnç görülmektedir (7).

PKOS'lu kadınlarda vücut kütle indeksinden (VKİ) bağımsız olarak insülin direnci görülür (8). İnsülin direncinin patogeneizde en etkin rolü oynadığı düşünülmektedir (9). İnsülin direnci, insülin reseptörlerindeki azalmaya, postreseptör defektine, insülin reseptörlerine karşı oluşan oto antikorlara ve insülin etkisine karşı inhibitörlere bağlı olabilir (10). İnsülin direncinin varlığı ve yağ doku artışı, bu hastalarda diabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır. İnsülin direncinin, obezite ve hipotalamik-pitüiter-gonadal aks disregülasyonunun ana nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, insülin direnci androjen seviyelerindeki artışa neden olarak ovulatuvar disfonksiyonun yanında hirsutizm, akne ve alopesiyi beraberinde getirebilir. Tüm bunlar daha sonra kişinin beden görünümü ve benlik saygısı ile ilgili sorunlar yaratarak kaygı bozukluğu ve depresyona neden olabilir. PKOS'ta karşılaştığımız insülin direncinin etiyolojisi komplekstir, genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Altta yatan bu nedenlerin tanımlanması insülin direncinin ve artmış risk faktörlerinin azalmasını sağlayabilir. Abdominal obezitenin, insülin direncine muhtemelen inflamasyon aracılığıyla katkıda bulunduğu düşünülmektedir. PKOS'ta subklinik inflamasyon rapor edilmiştir (11), ancak günümüzde hala tartışmalıdır (12).

Metabolik sendrom, insülin direnci (IR) ve obezite ile birlikte hipertansiyon (HT), yüksek trigliserit düzeyleri, düşük yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyleri, abdominal obezite ve yüksek açlık kan şekeri (AKŞ) kriterlerinin üç veya daha fazlasının birlikte olmasıdır. Bu kriterlere göre PKOS metabolik bir sendrom olarak kabul edilmektedir (13).

PKOS etiolojisinde genetik faktörler kadar çevresel etkenlerinde rolü olduğu düşünülmektedir. Sedanter yaşam tarzı, kötü beslenme alışkanlıkları ve obezite PKOS'un olumsuz etkilerini kötüleştirebilir (14). PKOS tedavisinde günümüzde en çok oral kontraseptif ajanlar tercih edilmekle birlikte medikal tedavinin yanı sıra kalori alımının düzenlenmesi ve egzersiz desteğinin; hem ilaç etkisini artırıcı hem de uzun dönem vücut kompozisyonu değişimi, kardiyorespiratuar riskin azalması, insülin direncinin azalması, ovülasyonun iyileşmesi ve kilo kaybı gibi olumlu sonuçları olduğu gösterilmiştir (15).

Günümüzde, bu hastalıkta hiperandrojenizm, hiperinsülinemi ve oksidatif stresin etkisi üzerinde durulmakta ve bu konuda çeşitli çalışmalar yürütülmektedir.

Netrin-1 ekspresyonu, makrofajlarda doymuş yağ asidi palmitat tarafından indüklenir ve makrofaj göçünü bloke etmek için reseptörü Unc5b aracılığıyla etki eder. Diyetle indüklenen obezitenin bir fare modelinde, adipoz doku makrofajlarının, netrin-1'i bloke ederek geri yüklenebilen azaltılmış göç kapasitesi sergilediği gösterilmiştir. Ayrıca Netrin-1'in hematopoetik delesyonu, yağ dokusu makrofaj göçünü kolaylaştırır, iltihabı azaltır ve insülin duyarlılığını artırır. Toplu olarak, bu bulgular netrin-1'i obezite sırasında yağ dokusunda kronik inflamasyonu ve insülin direncini teşvik eden bir makrofaj tutma sinyali olarak tanımlar. İnsülin direnci ve diyabet konularında netrin-1 proteini ile ilgili çalışmalar yapılmış olup; netrin-1'in Tip 2 DM patofizyolojisindeki rolü ve insülin direnci ile diyabetin gelişimi aşamalarındaki rolü kesin anlaşılammıştır. Literatürde PKOS ile ilgili bu konuda bir çalışma bulunmamaktadır.

Hücreler metabolik sürecin bir parçası olarak devamlı serbest radikal ve reaktif oksijen ürünleri oluştururlar. Bu serbest radikaller ve reaktif oksijen ürünleri kompleks bir antioksidan sistem tarafından nötralize edilirler. Oksidatif hasar da bu reaktif oksijen ürünler veya serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizlik olarak tanımlanabilir. Bu dengesizlik önemli hücre kompartmanlarında geri dönüşümsüz bazı hasarlara neden olabilir. Bazı çalışmalarda PKOS'lu

hastalarda hücre ve dokulardaki moleküler hasarın ana nedenlerinden birisi olarak kabul edilen oksidatif stres artarken, azalmış bir antioksidan kapasitesi gözlenmiştir.

Polikistik over sendromunda görülen hiperandrojenemi, insülin rezistansı ve oksidatif stres uzun dönemde vaskülo-endotelyal hasara neden olur. Netrin-1'in endotelyal ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezisinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yaptığı da bilinmektedir.

Bu çalışmadaki amacımız Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran PKOS tanılı kadınların, netrin-1, malondialdehit, glutatyon, nitrik oksit düzeylerini belirleyerek PKOS tanısı olmayan sağlıklı kadınlarla karşılaştırılarak incelenmesi ve bu markerların PKOS'taki vaskülo-endotelyal hasarın bir belirteci olup olmayacağını göstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS)

2.1.1-Tanım ve Tarihçe:

PKOS, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluktur. Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış; kompleks, metabolik, genetik bir bozukluk olan PKOS'un klinik yansıması sıklıkla; menstrüel düzensizlikler, ovalatuvar disfonksiyon ve infertilite şeklinde olmakla birlikte hirsutizm, akne, androjenik alopesi gibi kozmetik problemlerin de görülmesi PKOS'un klinik heterojenitesine işaret etmektedir. PKOS görülme sıklığı ve uzun dönemde morbiditelere sebep olması ile önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (7). PKOS tanısı olan bireylerin ailelerinde hem kadın hem de erkek akrabalarında metabolik anormallikler de dâhil olmak üzere sendromun özellikleri görülebilir (16; 17). Genom ilişkilendirme çalışmaları ile (GWA: Genome-wide association), PKOS'a katkıda bulunma rollerinin büyük ölçüde bilinmemesine rağmen bir takım aday bölgeleri tanımlanmıştır (18; 19).

PKOS, dünya çapında benzer yaygınlığa sahip sık görülen bir hormonal bozukluktur. Hastalığın şiddeti etnik kökenler arasında farklılık göstermesine karşın, hastalığın görülme sıklığı farklı ırklar arasında benzerlik göstermektedir (20). Avrupa, Avustralya, Asya ve Amerika'da yürütülen, toplam 55 ayrı populasyon içeren çalışmaların 2016'da yapılmış meta analizinde PKOS'lu kadınların oranı, kullanılan diagnostik kritere göre çeşitlilik göstermektedir;

- NIH (U.S. National Institutes of Health) kriterlerine göre %6 (%5-8, n=18 çalışma)
- Rotterdam kriterlerine göre %10 (%8-13, n = 15 çalışma)
- Androgen Excess and PCOS Society kriterlerine göre %10 (7-13, n = 10 çalışma)

Dolayısıyla, PKOS prevalansı için en ölçülü tahmin yaklaşık %6 olmakla birlikte, gerçek prevalansın %10'a yakın olduğu düşünülmektedir (2). Pek çok nüfus üzerinde çalışılmaya devam edilmekle birlikte bu raporların çoğunda Avrupa kökenli beyaz ırktan bahsedilmektedir; ancak Zenci ve Güney Amerikalı kadınların çoğunluğu oluşturduğu toplumlarda da benzer prevalans görülmektedir. Sonuç olarak, insanların

Afrika'dan 50.000 yıl önce göç ettikleri düşünülürse, PKOS genotipleri ırk çeşitliliğinin başlangıcından daha erken ortaya çıkmış gibi görünmektedir (21).

2018 International Evidence-Based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome rehberine göre:

- Beyaz ırkta rölatif olarak hafif fenotip izlenir.
- Beyaz ırkta özellikle Kuzey Amerika ve Avusturalya'da vücut kitle indeksinin (VKİ) daha yüksek olduğu izlenir.
- Orta Doğu, Hispanik ve Akdeniz kökenli kadınlarda daha ciddi hirsutizm izlenir.
- Güneydoğu Asya ve Avustralya yerlilerinde artmış santral obezite, insülin rezistansı, diyabet, metabolik riskler ve akantoz izlenir.
- Doğu Asyalılarda düşük VKİ ve daha hafif form hirsutizm izlenir.
- Afrikalılarda daha yüksek VKİ ve metabolik özellikler izlenir.

Buna göre hastaların bireysel değerlendirmesinde diyet ve yaşam tarzı farklılıkları da göz önünde bulundurularak rehberlerin etnik ve coğrafi varyasyonlar göz önüne alınarak tekrar yorumlanması gerekmektedir. Ancak halen değişik etnik varyasyonlara göre standardize edilmiş klinik hiperandrojenemi değerlendirmesinde yardımcı olabilecek bir ölçek tanımlanmış değildir (22).

Tıp literatürüne bakacak olursak İtalyan tıp bilimcisi, doktor ve doğa bilimci Vallisneri 1721'de evli ve infertil bir kadını ilk tanımlayan kişidir. Over dokusunun beyaz bir yüzeye sahip olduğunu ve kabarık, güvercin yumurtası gibi büyükçe olduğunu tariflemiştir. 1844'de Chereau ve Pokitansky fibromları tarif ettiğinde dejeneratif karakterde yumurtalıklarda sklerotik lezyonları hidropik olarak tariflemiştir. Bulius ve Kretschmar ilk defa hipertekozis olarak tariflemiştir. 1879'da Tait overlerin semptomatik kistik dejenerasyonlarının tedavisi için bilateral ooferektomi önermiştir.

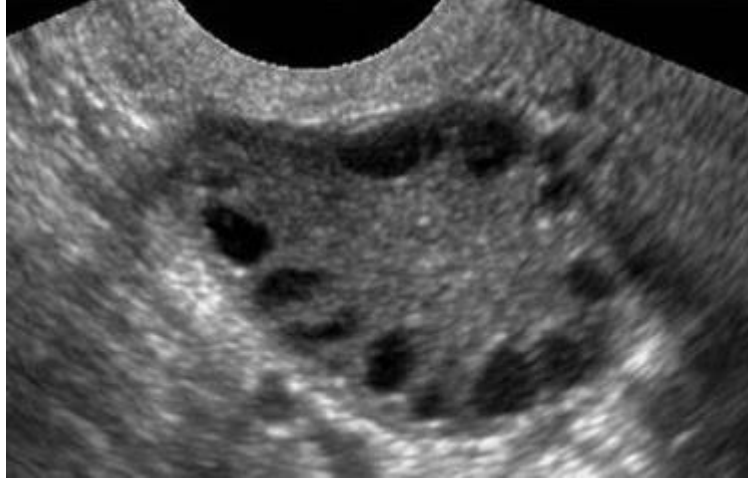
1902 yılında Kahlden bir derleme yayınlarken bu polikistik yumurtaların patolojisi ve klinik uygulamalardan bahsetmiştir. 1915'de John A. McGlenn over rezeksiyonu yerine bu hidropik yumurtaların punktuasyonunu önermiştir (23). İlk kez 1921 yılında Achard ve Thiers isimli araştırmacılar hiperandrojenizm ile insülin ilişkisinden bahsetmişlerdir (24).

1935 yılında Stein ve Leventhal bir çalışma ile bir sendrom tanımlamışlardır. Bu sendrom; dördü obez, amenoreik, hirsutik ve büyük polikistik görünümde overleri olan yedi kadında tanımlanmıştır. Overlerin büyük ve tunika tabakasının kalın olduğunu belirledikleri bu tabloya Stein-Leventhal sendromu adını vermişlerdir. Öncelikli olarak hastalığın yumurtalığın fazla büyük olmasından kaynaklandığını düşünmüşler ve kısmi over rezeksiyonu yapmışlardır. Bu cerrahi girişimden sonra 7 hastada da adet döngüsü normale dönmüş ve hastalardan ikisi hamile kalmıştır. Sonrasında ise medikal tedavilerin gelişmesi ile birlikte cerrahi tedavi daha az kullanılır olmuştur (23).

Polikistik over sendromundaki biyokimyasal bozukluk ise ilk olarak 1958'de Mc Arthur, Ingersoll ve Worcester tarafından tanımlanan hasta grubunda idrarda luteinizan hormonun (LH) seviyesinde artış olarak bildirilmiş olup sonraki yıllarda tanıda kullanılmaya başlanmıştır. 1980'lerde serum LH/FSH (folikül stimüle edici hormon) oranının LH lehine artması tanıda yer almıştır.

Kahn ve ark. 1976 yılında ve Burghen ve ark. 1980 yılında PKOS'lu hastalarda insülin direncini göstermişler. Saurberi ve Cooperberg tarafından 1981'de ilk kez ultrasonografide (USG) 'polikistik over görünümü' tanımlandıktan sonra 1985 yılında, Adams ve ark. bu görüntünün PKOS'ta tanı kriteri olarak kullanılabileceğini açıklamıştır (25; 26; 27; 28).

PKOS için tanımlanmış; NIH, Rotterdam ve AE-PCOS tanı kriterleri olmak üzere 3 alternatif tanı kriteri sistemi mevcuttur. 1990 yılında oluşturulan NIH tanı kriterlerinde klinik ya da biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve kronik anovulasyon yer almaktadır. 2003 yılında ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embriology) ve ASRM (American Society of Reproductive Medicine) tarafından Rotterdam'da düzenlenen bir toplantıda belirlenen Rotterdam kriterlerine göre anovulasyon ya da oligoovulasyona bağlı menstrüel düzensizlik, diğer nedenleri ekarte edilmiş hiperandrojenizmin klinik ya da biyokimyasal bulguları ve ultrasonografi ile gösterilen polikistik over bulgularından en az ikisinin saptanması ile PKOS tanısı konulabilmektedir (29) (Resim 2). Önemli olarak, bu kriterlere göre polikistik over görüntüsünün tanısasal bir değeri bulunmamaktadır.



Resim 2-Polikistik Over Ultrason Görüntüsü

2003 yılındaki Rotterdam ESHRE/ASRM toplantısında gelişen ultrasonografik teknoloji de tanı kriterlerine dâhil edilmiştir.

2004 Rotterdam kriterleri (oligomenore/amenore, klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm, ultrasonografide overlerde polikistik görünüm) olarak bilinen bu tanı kriterleri de değişik hasta fenotiplerini ihtiva etmesi, hiperandrojenemisi olan ve olmayan hastaların aynı grupta değerlendirilmesi nedeniyle eleştirilmiştir.

2006 yılında sadece hiperandrojenemik vakaların PKOS tanısı alabileceğini belirten "Androgen Excess Society" (AES) kriterleri öne sürülmüştür. 2006 yılında belirlenen AE-PCOS kriterlerine göre ise PKOS, oligo-anovülasyon ya da polikistik overler formundaki ovulatuvar disfonksiyon ile ilişkili klinik ya da biyokimyasal hiperandrojenizm olarak tanımlanır (30).

Tüm tanı kriteri sistemlerinde PKOS kliniği ile benzer tabloya neden olabilecek nonklasik konjenital adrenal hiperplazi gibi nedenlerin dışlanması gerekliliği vurgulanmaktadır (29; 31). Klinik özelliklerin heterojen olduğu PKOS, Rotterdam kriterlerine göre 4 fenotip olarak tanımlanmıştır (Tablo 1).

Fenotip A kategorisindeki hastalar; hiperandrojenizm, oligo-anovülasyon, polikistik overler olmak üzere 3 tanı kriterini de taşımaktadırlar.

Fenotip B kategorisindeki hastalar hiperandrojenizm, oligo-anovülasyon olmak üzere 2 tanı kriterini taşıırken, PKOM bu gruptaki hastalarda görülmemektedir. Fenotip A genellikle "tam" PKOS fenotipi olarak adlandırılırken, fenotip A ve B genellikle "klasik" PKOS olarak adlandırılır.

2003 Rotterdam kriterleri ve 2006 AE-PCOS tanı kriterleri ek bir fenotip olan hiperandrojenizm ve PKOM ile karakterize fenotip C'yi "ovulatuvar" fenotip olarak fenotip sınıflandırmasına dâhil etmişlerdir.

Son olarak, 2003 Rotterdam kriterleri, dördüncü bir PKOS fenotipi olan oligo-anovülasyon ve PKOM ile karakterize olan fenotip D'yi sınıflama kriterlerine dâhil etmiştir. Fenotip D sıklıkla "hiperandrojenik olmayan" PKOS fenotipi olarak adlandırılmıştır. 2012 yılında, NIH tarafından düzenlenen "PKOS'da Kanıta Dayalı Metodoloji Konferansı" konsensüs raporu, belirlenen spesifik PKOS fenotiplerinin belirtilmesi koşuluyla PKOS tanısında 2003 Rotterdam kriterlerinin kullanılması gerektiği tavsiye etmiştir (32).

Fenotip ırk ve etnik kökene göre değişebilir, perimenarş ve perimenopozal dönemde tanımlanması zordur ve fenotip özellikleri obezite ile şiddetlenir. Hiperandrojenizm varlığını gösteren kriterleri karşılayan hastalar, daha ciddi bir üreme ve metabolik bozukluk gösteren fenotip tanımlama eğilimindedir. Farklı fenotipler, metabolik ve diğer morbiditeler için farklı risk taşırlar. Bu yüzden PKOS tanısı alan hastanın fenotipi belirlenmelidir, takibi ve tedavisi yapılırken fenotip göz önünde bulundurulmalıdır. Mevcut yayınlar, klinikte tanı alan PKOS hastalarının yarısından fazlasının fenotip A olduğunu, diğer üç fenotipin (yani, B, C ve D) ise hemen hemen eşit prevalansa sahip olduğunu göstermektedir. Bu veriler ışığında, klinik ortamda belirlenen PKOS hastalarının yaklaşık üçte ikisini PKOS klasik formu (fenotip A ve B) oluşturmaktadır (33).

Birçok dernek ve kuruluşun kendi bakış açılarıyla tanımlamaya çalıştığı PKOS'un daha objektif ve detaylı tanımlanmasının açık bir gereklilik olması bilgisiyile, çok yakın tarihli olarak 'European Society of Human Reproduction and Embriology' (ESHRE) ve 'American Society of Reproductive Medicine'nin (ASRM) de ortaklık ettiği '2018 Uluslararası kanıta dayalı PKOS değerlendirme ve yönetim rehberi' (2018 PKOS Rehberi) yayınlanmıştır. Bu rehberde birçok "yeni" nokta belirtilirken, bazı eski bilgiler ise "yine" vurgulanmaya devam etmiştir (22).

Tablo 1. Konsensusların PKOS tanı kriterleri ve PKOS fenotipleri

	1990 US NIH Kriterleri			
	2006 AE-PCOS Kriterleri			
	2003 Rotterdam Kriterleri			
	FENOTİP A	FENOTİP B	FENOTİP C	FENOTİP D
Hirsutizm ve hiperandrojenizm	+	+	+	-
Ovulatuvar disfonksiyon	+	+	-	+
Polikistik over morfolojisi	+	-	+	+

2.1.2-Prevelans:

PKOS prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı tanımlama kriterleri kullanıldığında farklı prevalans oranları elde edilmiştir. NIH kriterleri kullanıldığında PKOS prevalansı %6 (%5-8) iken, Rotterdam kriterleri ve AE-PCOS Society kriterleri kullanıldığında sırasıyla % 10(%5-13) ve %10(%7-13) daha yüksek prevalans oranları görülmüştür (2). Aynı tanısal kriterlerin kullanılmasına rağmen değişik çalışmalarda ortaya çıkan farklı prevalans oranları; çalışma gruplarında oligoanovülasyon ve klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm gibi sendrom bileşenlerinin sıklıklarındaki coğrafi farklılıklardan, fenotipik tanımlama yapılmasındaki zorluklardan ve örneklem kısıtlılıklarından kaynaklanmış olabilir.

Türkiye’de PKOS prevalansının mevcut üç tanı kriter sistemine göre nasıl değiştiğinin araştırıldığı bir çalışmada, NIH kriterlerine göre prevalans %6.1, Rotterdam kriterlerine göre %19.9 ve AE-PCOS kriterlerine göre, %15.3 olarak bulunmuştur (34).

2.1.3- Etyopatogenez:

Polikistik over sendromu patofizyolojisi çok sayıda klinik ve deneysel çalışmaya rağmen tam olarak aydınlatılmayan kompleks bir sendromdur. Patofizyolojide gonadotropin dinamiğindeki değişiklikler, steroidogenez defektleri, insülin direnci ile genetik faktörler ön plana çıkmaktadır.

2.1.3.a. Hipotalamo-Hipofizer disfonksiyon:

Normal menstrüel siklusta arkuat çekirdekten pulsatil salınan gonadotropin serbestleştirici hormonun (GnRH) ön hipofizden pulsatil FSH ve LH salınımına neden olmasına karşın PKOS'ta hipotalamus-hipofiz-over aksının fonksiyonunda bozukluklara bağlı olarak gonadotropinler ve seks steroidlerin konsantrasyonu siklik olarak değişmemektedir. GnRH pulse sıklığının artışı, GnRH'ye yanıt artışı ve yüksek östrojen düzeyleri nedeniyle LH pulslarının amplitüdü ve frekansı ile ortalama serum LH konsantrasyonu artmış olarak tespit edilmektedir. Artmış LH, teka hücrelerinden aşırı androjen sentezine ve sonuç olarak ovaryan androjenlerde artışa neden olur. Teka hücreleri tarafından fazla miktarda androstenedion ve az miktarda da testosteron sentezlenir. Bu androjenler, granuloza hücrelerinde, FSH etkisi ile aromatisasyon sonucu östron ve östradiole dönüştürülürler. Peripubertal dönemde gelişmeye başlayan hipotalamo-hipofizer aksta görülen GnRH salınım frekansı ve amplitüdünün artması olguların çoğunda semptomların bu dönemde başlamasını da açıklamaktadır.

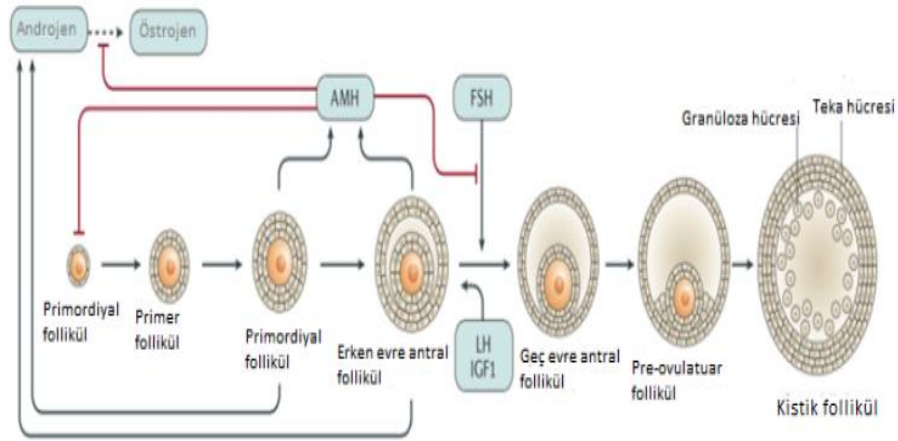
Polikistik over sendromlu hastalarda LH'nin tersine hipofizer FSH sekresyonu erken foliküler fazda belirgin düşük olarak tespit edilmektedir. Düşük FSH düzeyinin nedeni tam olarak anlaşılamamış olup, kronik karşılanmamış östrojenin negatif feedback etkisi ve artmış GnRH pulsatilitesinin LH- β gen ekspresyonunu, FSH- β gen ekspresyonuna göre daha fazla arttırması patogeneizde rol oynadığı düşünülen iki mekanizmadır (10; 35; 36; 37; 38; 39).

2.1.3.b Steroidegenез Değişiklikleri:

Polikistik over sendromu patofizyolojisinde over/adrenal bez steroidogenezinde birçok değişiklik bulunmuştur. Artmış LH düzeyi overlerde siklik adozin monofosfat (cAMP) artışı ile steroidogenezi androjenlerin üretimi yönünde etkilemektedir. Bu durum folikül gelişiminde duraklama ile sonuçlanır (Şekil1).

İn-vivo kanıtlar ovaryan steroid sentezinin ve gonadotropinlere karşı artmış duyarlılığın, uzamış gonadotropin supresyonu sonrasında devam ettiğini göstermiştir. Buna benzer bulgular adrenal bezlerde de izlenmiştir. Uzun etkili GnRH agonisti aracılığıyla ovaryan steroid sentezi baskılanan PKOS'lu kadınlarda, adrenal kaynaklı androjenler sağlıklı kadınlara göre yüksek kalmaya devam etmiştir (40; 41; 42; 43).

Teka hücrelerinde bulunan insülin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1, IGF-2) reseptörlerinin uyarılmasının over androjen üretiminde etkileri olduğu saptanmıştır (44). İnsülinin etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte hiperinsülineminin düzeltilmesi ile LH seviyesinde değişiklik olmaksızın serum androjen düzeylerinde azalma gösterilmiştir. PKOS'lu hastaların %20-50'sinde artmış dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S) ve 11β (OH) androstenedion seviyeleri adrenal bezin artmış androjen üretimini göstermektedir. Ancak adrenokortikotropik hormon (ACTH) seviyeleri sağlıklı kadınlarınkine benzer düzeylerde izlendiğinden, farklılığın ACTH'ye yanıtta kaynaklanabileceği veya ACTH dışı faktörler ile adrenal bezin uyarıldığı düşünülmektedir (45). Adrenal artmış androjen sentezinin PKOS patogenezindeki yeri tam olarak bilinmemektedir.



Şekil 1. PKOS'da folikül maturasyon duraklaması

2.1.3.c. İntraovaryan Faktörler:

Polikistik over sendromundaki ovulatuvar disfonksiyondan sorumlu mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Overdeki enzimatik veya hormonal mekanizmalardaki defektlerden olabileceği öne sürülmüştür. Histolojik incelemelerde overde; yüzey alanı, ortalama hacim ve atrezik folikül sayısının artmış olduğu izlenir. Benzer yaş grubundaki PKOS'lu ve normal olguların overleri karşılaştırıldığında PKOS'ta tunika albuginea kalınlığı %50, kortikal stroma kalınlığı 5 kat ve over hilus hücre sayısı 4 kat artmıştır. İntraovaryan faktörler hipotezine göre bu tabloya sebep olan durum overlerdeki değişikliklerdir.

Normal over fiziolojisinde teka hücreleri testosteron ve androstenedion sentez etmekte ve bunlar granuloza hücrelerinde aromataz aktivitesi ile östradiole

dönüşmektedir. Androjenlerin fizyolojik seviyelerinden daha yüksek değerlerinde ise aromatzasyon yerine 5-alfa redüktaz yoluna kaymaktadır. Serbest östradiol (E2) ve androstenedionun periferik dönüşümünden östron (E3) oluşur. Oluşan negatif feedback etki ile FSH düzeyinde azalma gözlenir.

PKOS'lu hastalarda ise oluşan aşırı östron FSH'ı tam baskılayamadığı için yeni folikül gelişimi sürekli olarak uyarılır ve foliküllerde maturasyon tamamlanamadığı için ovulasyon gerçekleşmemektedir. Foliküller birkaç ay over dokusunda varlıklarını idame ettirirler. Bu foliküller atreziye uğrarken, farklı folikül grubu aynı gelişim paternine girer. Ovaryan stromal doku artar ve stromal dokudaki artış LH uyarısını ve böylelikle de androstenedion ile testosteron sentezini artırır (46).

2.1.3.d. İnsülin Rezistansı ve Hiperinsülinemi:

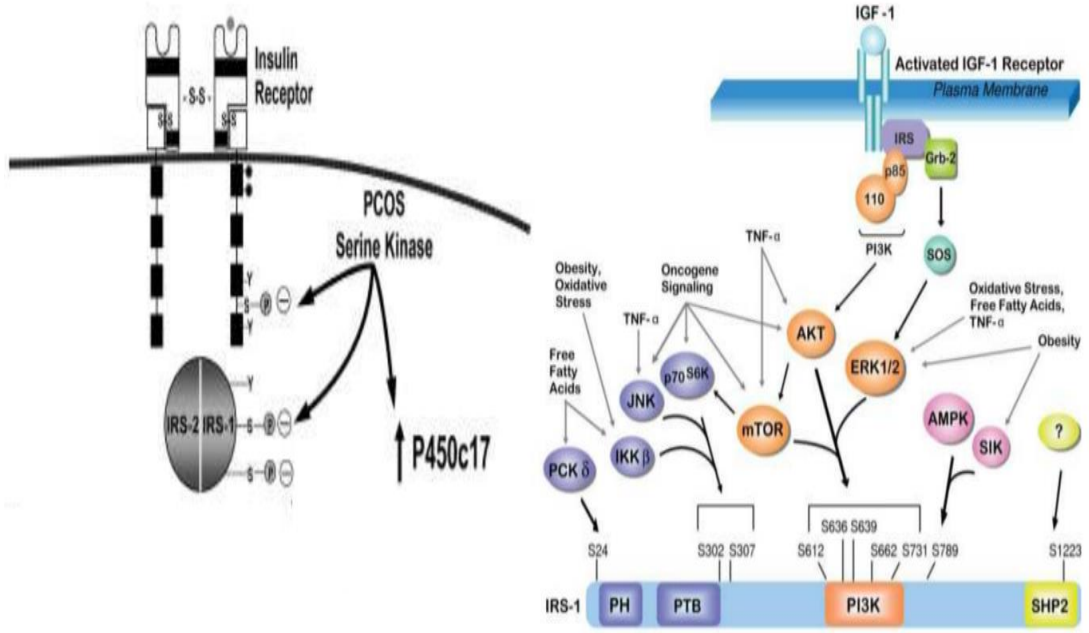
İnsüline normalde cevap veren hedef organlarda insülin sinyal yolunda yetersizlik olması ve bu nedenle de biyolojik cevabın oluşması için daha fazla insülin ihtiyacı duyulması insülin direnci olarak tanımlanmıştır.

Pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin, karaciğer dokusunda glukoneogenezi inhibe edip karaciğerden glukoz salınımını baskılamaktadır. Ayrıca kandaki glukozun, kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda glikojen olarak depolanmasını sağlamaktadır. İnsülin duyarlılığının azaldığı hastalarda glukoneogenez artıp, kan glukoz seviyesinde yükselme olacaktır. Ayrıca yağ dokusunda artan trigliseritlerin hidrolizi nedeniyle kandaki serbest yağ asidi miktarı da artacaktır.

PKOS patogeneğinde periferik insülin direnci ve bu duruma sekonder oluşan hiperinsülinemi önemlidir. PKOS'ta insülin direncinin (IR) reseptör-kaynaklı sinyal iletimiyle ya da postreseptör defektile olduğu, adiposit ve iskelet kas hücrelerinde yapılan klinik çalışmalarla gösterilmiştir (47) (Şekil2). Ayrıca deri fibroblastlarında bozulmuş insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesi sonucu ile insülin sinyalizasyon kusuru tariflenmiştir (47). Son yıllarda PKOS etiopatogeneğinde en çok suçlanan neden, periferik IR ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan kompensatuar hiperinsülinemidir.

Hiperinsülinemi, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-1 (IGFBP-1) sentezinde değişiklik yaparak anormal lokal steroidogeneze de yol açmaktadır. LH'ya

ve overin stromal hücrelerine direkt etkiyle kanda serbest androjen seviyelerini arttırıp, seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) düzeyinde azalmaya yol açmaktadır. İnsülin direnci PKOS'lu hastaların yaklaşık %50-75'inde bulunup, vücut kitle indeksi (VKİ) bu oran ile doğru orantılı olacak şekilde artmaktadır. Artan insülin direnci artmış DM riski ve lipid anormallikleri başta olmak üzere birtakım olumsuz klinik sonuçlarla da ilişkilidir (41; 48; 47; 49; 50).



Şekil 2. PKOS – İnsülin Sinyal Defektleri

2.1.3.e. Obezite:

Birçok PKOS olgusunda menstrüel bozukluk başlamadan önce belirgin kilo artışı olmaktadır. PKOS'lu hastalarda, bel/kalça oranı arttığı, karın duvarında ve visseral mezenterik bölgelerde yağ birikiminin olduğu android tipte obezite izlenmektedir. Biriken bu yağ dokusu, insüline karşı daha duyarsız olduğu için hiperinsülinemi, glukoz toleransında bozukluk, diabetes mellitus ve androjen yapım hızında artış görülmektedir. Ayrıca hipertansiyon (HT), olumsuz lipid ve lipoprotein profilleri gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığı da söz konusu olmaktadır. Androjen seviyelerindeki artış, seks hormon bağlayıcı globulin düzeyini azaltarak serbest testosteron ve östradiol düzeylerinin artmasına neden olmaktadır (51; 52; 53).

Obez olmayan PKOS'lularda serum growth hormon (GH) ve LH düzeyi, obez olan olgulara göre daha yüksektir. Overdeki granüloza hücrelerinde GH reseptörü

bulunmaktadır ve GH, FSH ile sinerjik etki göstererek IGF-1 sentezinin artmasına, dolayısı ile teka hücrelerinde LH etkisinin artmasına neden olmaktadır (53) .

2.3.1.f. Genetik Faktörler:

Polikistik over sendromu, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan ailesel, kompleks bir hastalık olarak düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda hastaların bir kısmında X kromozomuna bağlı dominant geçiş gösteren çeşitli fenotipler tanımlanmıştır (54; 55). Yapılan diğer çalışmalarda ise PKOS'un otozomal dominant geçiş gösterdiği ve erkeklerde de erken saç dökülmesine neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda PKOS'lu hastaların anne, baba ve kız kardeşlerinde de artmış hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemi gösterilmiştir (56; 57; 58; 59).

Polikistik over sendromundan sorumlu genleri tespit etmek için yapılan genetik araştırmalarda steroid hormonlar, karbonhidrat metabolizması ve gonadotropin sekresyonu ile ilişkili olduğu bilinen, CYP21, P450(CYP11) ve P450(CYP17) enzimlerini kodlayan genlerin üzerinde durulmuştur. Çok kapsamlı çalışmalar olmamakla birlikte CYP11'in varyantlarının PKOS'lularda aşırı androjen sentezinde ve hirsutizmde rolü olduğuna dair deliller vardır. Aksine CYP17 ve CYP21 genlerinin incelenmesi sonucu PKOS'taki rollerini destekleyecek bir bulguya rastlanmamıştır. PKOS'un tek bir genin değil, birden fazla genin sorumlu olduğu poligenik bir hastalık olduğu düşünülmektedir (60; 25) (Tablo 2).

2.1.4-Klinik Bulgular:

Polikistik over sendromu klinik olarak peripubertal dönemde başlayan menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik tipte alopesi), obezite, insülin direnci ve infertilite bulguları ile karşımıza çıkmaktadır (61; 25).

2.1.4.a Menstrüel Düzensizlik:

Kadınlarda düzenli bir menstrüel döngü olması, ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteronun varlığına bağlıdır. 21 ile 35 gün arası süren menstrüel döngüler normal olarak kabul edilmektedir. PKOS'lu olgularda reproduktif çağda en sık semptom adet düzensizliğidir. Kadınların yaklaşık %60-

85'inde belirgin menstrüel bozukluk görülmektedir. Polikistik over sendromlu hastaların yaklaşık olarak %50'sinde oligomenore ve %25'inde amenore saptanırken; polimenore %2 gibi çok düşük oranlarda izlenmektedir. Kronik anovulasyona bağlı progesteron ile karşılanamayan östrojen miktarının artması sonucu endometriyumda aşırı proliferasyon ve damarlanma artışı olur ve buna bağlı düzensiz uterin kanamalar görülebilir. PKOS'lu hastalarda genellikle puberte ile başlayan siklulardaki düzensizlik reproduktif çağın bazı dönemlerinde düzenli olarak izlenebilmektedir (62; 63; 64; 65).

Tablo 2-PKOS'ta Aday Genler

Aday Gen	Polimorfizm	Kromozom Yerleşimi
Ovaryan ve Adrenal Steroidogenez Genleri		
CYP11α	(tta)n	15q23-24
CYP21	Heterozigot CYP21 mutasyonları	6p21.3
CYP17	Premotor bölge T/C	10q24.3
CYP19	Aromataz SNP 50	15q21.1
Steroid Hormon İlişkili Genler		
Androjen reseptör geni (AR)	(CAG)n	Xq11-12
SHBG	(TAAAA)n	17p12-13
Gonadotropin Metabolizma Genleri		
LHβ	Trp8Arg Ile15Thr	19q13.32
Follistatin	D5S474 D5S623 D5S822	5q11.2
İnsülin Metabolizma Genleri		
İnsülin geni (İNS)	İNS VNTR	11p15.5
İnsülin reseptör geni (İNSR)	Ekson 17 C/T	19p13.3
IRS	Gly972Arg	2q36
Calpain 10	SNP-44,43,19.63	2q37
Enerji Metabolizması Genleri ve Diğerleri		
Leptin	(tttt)n ins	7q31.3
Adinopektin	Ekson 2 T45G	3q27
TNF α	-308G/A	6p21.3

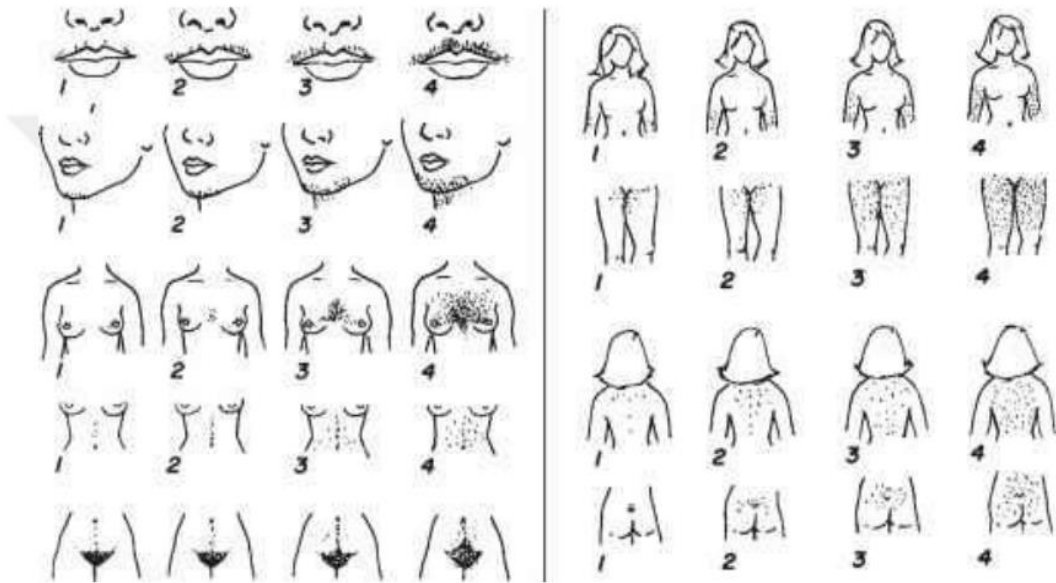
2.1.4.b. Hiperandrojenemi:

Hiperandrojenizm, PKOS'lu hastaların kliniğinde en sık hirsutizm olmak üzere akne, sebore, androjenik alopesi veya hidradenitis süpürativa şeklinde izlenebilir. Tanı için hastada hiperandrojenizme ait klinik ve biyokimyasal bulgulardan birinin varlığı yeterli olmaktadır (51).

2.1.4.b.1. Hirsutizm:

Polikistik over sendromlu kadınlarda en belirgin ve görsel klinik bulgudur. Aşırı miktarda terminal kıl folikülünün erkek tipte dağılımı görülür ve sıklıkla yüz bölgesinde üst dudak ve çenede, areola etrafı, midsternum, alt abdomende linea alba hattı boyunca ve uyluk iç yanlarda tüylenme izlenir. PKOS tanısı almış hastaların %70'inde hirsutizm izlenir. Klinikte hirsutizm, sıklıkla Modifiye Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirilmektedir (Resim 3).

Bu metot ile vücut 9 bölgeye ayrılmakta (üst dudak, çene, göğüs, sırt, bel, üst kol, üst karın, alt karın ve uyluk) ve her bölge kıl dağılımı açısından 0-4 arasında skorlandırılarak, 6-8'in üzerindeki değerlerde hirsutizm tanısı konulmaktadır. Hirsutizmin derecesi ve dağılım yerleri herhangi bir hastalık için spesifik değildir. Ek olarak, etnik ve bireysel farklılıklara bağlı olarak her PKOS' lu hastada hirsutizm bulunmayabileceği de akılda tutulmalıdır (66; 67; 68; 69).



Resim 3-Ferriman-Gallwey Skorlama Sistemi

2.1.4.b.2 Akne:

Hiperandrojenizmin PKOS'lularda gözlenen diğer bir bulgusu aknedir. Kıl folikülünün inflamatuvar bir bozukluğu olan akne, PKOS'lu kadınların %12-14'ünde görülmektedir (70). Androjenlerden özellikle de serbest testosteron seviyelerinin artması yağ bezlerinde hücre bölünmesini ve yağ yapımını tetiklemektedir. İnflamasyonun eklenmesinin de akne oluşumuna sebep olduğu belirtilse de androjen-akne arasındaki ilişki henüz netlik kazanmamıştır. Çünkü peripubertal evredeki erkek çocuklarda ilerleyen dönemlerde androjen seviyelerinin artmasına bağlı olarak akneler kaybolur. Ayrıca kimi olgularda da yüksek androjen seviyelerine rağmen akne görülmemesi dikkat çekicidir (66; 71).

2.1.4.b.3. Androjenik alopesi:

Alopesi PKOS'ta nadiren karşımıza çıkmaktadır. Hastaların %5'inden daha azında izlenmektedir. PKOS'lu kadınlarda görülen androjenik alopeside parietal veya frontovertikal bölgelerde saç dökülmesi izlenir ancak frontal saç çizgisi korunmaktadır (72).

2.1.4.b.4. Akantozis nigrikans:

Hiperandrojenemik kadınlarda %1-3 oranında bulunan akantozis nigrikans ense, meme altı, vulva, aksilla gibi deri kıvrımlarının olduğu yerlerde görülen kabarık kahverengi lezyonlardır. Artmış pigmentasyona rağmen melanosit sayısında artış veya melanosit depolanması izlenmez. Hiperandrojenizm ve insülin rezistansına akantozis nigrikans eşlik ederse HAIR-AN sendromu olarak adlandırılır (71; 73; 74).

2.1.4.c. İnfertilite:

Folikülogenezis ve folikül matürasyonundaki sorunlar nedeniyle PKOS'lu hastaların yaklaşık yarısında kronik anovulasyon nedeniyle infertilite sorunları yaşanmaktadır. Kilo veren obez hastalarda hipotalamo-hipofizover aksdaki düzelmeye bağlı menstrüasyonlar düzeliş spontan gebelikler oluşabilir. Ayrıca ovulasyon indüksiyonuna yanıt artmaktadır (75; 76).

2.1.4.d. Obezite:

Android tipte obezitenin farklı çalışmalarda %30-50 civarında izlendiği PKOS'lu hastalarda bel/kalça oranı 0.85'ten fazladır. Obezitenin üç mekanizma üzerinden etki

ederek ovulasyonu engellediği düşünölmektedir. Zayıflama ile bu değişiklikler düzelebilmektedir (77; 78; 79; 80).

1. Periferde androjenlerin östrojenlere aromatisasyonunda artma ve buna bağlı overdeki lokal androjen seviyelerinde düşme

2. SHBG düzeylerinde azalma ve buna bağlı serbest östradiol ile testosteron düzeylerinde artma

3. İnsölin düzeyindeki artış nedeniyle overin stroma dokusunda androjen yapımının uyarılması

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) obezite tanısının konulması ve sınıflandırma yapılabilmesi için VKİ değerinin kullanılmasını önermektedir (81) (Tablo 3).

Tablo 3- WHO Obezite Sınıflandırması

Vücut Kitle İndeksi	Kg/m²
Normalin altı	<18.50
Aşırı zayıflık	< 16.00
Orta zayıflık	16.00- 16.99
Hafif zayıflık	17.00- 18.49
Normal	18.50 – 24.99
Kilolu	≥25.00
Pre-obez	25.00 – 29.99
Obez	≥30.00
Sınıf I obezite	30.00- 34.99
Sınıf II obezite	35.00- 39.99
Sınıf III obezite	≥40

2.1.5- Uzun Dönem Sonuçlar

2.1.5.a. İnsölin Direnci, Akantozis Nigrikans, Tip 2 DM

Çok iyi tanımlanmamış olsa da, insulin direnci, hiperandrojenizm ve PKOS arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Obezitenin insölin direncini şiddetlendirdiği bilirse de, klasik bir çalışmada, PKOS'lu hem zayıf hem de obez

kadınlarda insülin direnci ve tip 2 diabetes mellitusun, kilo olarak eşleştirilmiş, PKOS olmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığını göstermiştir (19).

Obezite PKOS'un hem risk faktörü hem de sonuçlarındandır. PKOS'lu kadınlarda bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diabetes mellitus riski artmıştır. PKOS, Tip 2 diyabet ve bozulmuş glukoz toleransı için majör risk faktörüdür (48). PKOS tanısı almış kadınlar, Tip II DM ve bozulmuş glukoz toleransı açısından önce açlık glukoz seviyeleri ile sonra da 75 gr'lık glukoz yükleme sonrası ikinci saat kan şekerleriyle taranmalıdır (82).

İnsülin direnci, PKOS'lu hem obez hem non-obez hastaların yarısından fazlasında görülmektedir (83). HOMA-IR ölçümleri kullanılarak yapılan bir prevalans çalışmasında, tedavi edilmemiş geniş bir PKOS popülasyonunda, insülin direnci prevalansı yaklaşık %64 olarak bulunmuştur (48). PKOS'lu normoglisemik kadınlar, hem açlık hem de glukoz yükleme hiperinsülinemisi gösterir, bu da Beta hücre kompanzasyonunun periferik insülin direnci için yetersizliğini gösterir. Bu durum, hastaların tip 2 diyabet için yüksek risk taşıdığını düşündürmektedir.

PKOS'lu obez kadınların %40'ında, 75 gr standart glukoz yükleme testi sonrası bozulmuş glukoz toleransı vardır. Bu sıklık zayıf kadınlarda daha düşüktür (84). Ayrıca PKOS olan hastalarda obeziteden bağımsız olarak β hücre disfonksiyonu bildirilmiştir (85). Diyet ve yaşam tarzı değişikliği, diyabetten korunmak için ilk seçenektir (86).

Akantozis Nigrikans, ense, aksilla, meme altı katlantısı, bel ve kasık bölgesi gibi fleksiyon alanlarında görülen kalınlaşmış, gri-kahverengi kadifemsi plaklarla karakterizedir (87). İnsulin direncinin bir cilt işareti olduğu düşünülen akantosis nigrikans, PKOS olan veya olmayan bireylerde bulunabilir. Akantosis nigrikans PKOS olan obez kadınlarda (%50 sıklık), PKOS olan normal kilolulara göre(%5 ila 10) daha sık bulunur (88).

2.1.5.b. Dislipidemi, Metabolik Sendrom, Kardiyovasküler Hastalık

PKOS'ta görülen klasik aterojenik lipoprotein profili, artmış düşük dansiteli lipoprotein (LDL), trigliserid düzeyleri, total kolesterol/yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) oranı ve azalmış HDL düzeyleri ile karakterizedir (89). PKOS'taki endotel disfonksiyonu, insülin direnci ve abdominal yağlanma ile ilişkili bulunmuştur (86).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı kriterlerine göre, PKOS'ta dislipidemi prevalansı %70'e yaklaşmaktadır (90). Bozulmuş lipid profili, hiperandrojenemili kadınlarda daha ağır seyreder (86). Bu değişiklikler, PKOS'lu kadınlarda total kolesterol düzeyinden bağımsız olarak kardiyovasküler hastalık riskini arttırabilir. Ayrıca PKOS'lu kadınların sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu için artmış sıklığa, koroner arter kalsifikasyonu ve artmış internal ve eksternal karotid arter sertliğine sahip oldukları bulunmuştur (91).

European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) 2012 görüşlerine göre, herhangi bir yaşta PKOS, artmış kardivasküler hastalık markerları yönünden yüksek riskli olarak kabul edilmektedir (86). Non-HDL kolesterol ve kalça çevresi ölçümü, artmış kardiyovasküler risk için en iyi klinik gösterge gibi durmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar için majör risk faktörü olan depresyon ve anksiyete, PKOS'ta sık görülmektedir.

Metabolik sendrom; insülin direnci, obezite, aterojenik dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterizedir. Tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için artmış riskle ilişkilidir (92). Metabolik sendrom prevalansı, PKOS olan kadınlarda %45, yaş olarak eşleştirilmiş kontrol grubundaki kadınlarda ise %4 olarak bildirilmiştir (93). Tüm PKOS fenotipleri metabolik sendrom için benzer risk taşımaz, hiperandrojenemi ve oligovulasyon kombinasyonu, metabolik sendrom için en riskli grubu oluşturur (94).

2.1.5.c. Obstrüktif Uyku Apnesi

Uyku apnesi, santral obezite ve insülin direnci ile ilişkilidir (95). PKOS olan kadınlarda uyku apnesi riskinin 30 ila 40 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (88). Bu kanıtlar, obstrüktif uyku apnesi ve PKOS'taki metabolik ve hormonal anormallikler arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. PKOS'lu hasta grubunda, Obstrüktif Uyku Apnesi olan kadınlar, Tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için, bu hastalığa sahip olmayanlara göre daha fazla risk altındadır (96).

2.1.5.d. Endometrial Neoplazi

PKOS olan kadınlarda yaklaşık üç kat artmış endometrium kanseri riski bildirilmiştir (99). Endometrial hiperplazi ve endometrium kanseri, kronik anovulasyonun uzun dönem riskleridir ve endometriumdaki neoplastik değişikliklerin, kronik karşılanmamış östrojenden kaynaklandığı düşünülmektedir (97).

Hiperandrojenizm, hiperinsülinemi ve obezitenin, SHBG seviyelerini düşürmesi ile sirkülasyondaki östrojen seviyelerinin artmasının da riski artırabileceği düşünülmektedir (88).

Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü 2014 verilerine göre, 40 yaş altı endometriyum kanseri olan az sayıda premenapozal kadının çoğu obezdir ya da kronik anovulasyonu vardır ya da ikisi birlikte (98). Bu nedenle ACOG 2012 bülteninde, 45 yaşın üzerinde anormal kanaması olan her kadına ve 45 yaşından genç olup medikal tedaviye dirençli, persistan anovulatuvar uterin kanaması olan ve uzun süreli karşılanmamış östrojen maruziyeti olan kadınlara, endometrial değerlendirme önermektedir (99).

2.1.5.e. İnfertilite

İnfertilite veya subfertilite, PKOS olan kadınlarda sık görülen bir yakınmadır ve anovulatuvar siklulardan kaynaklanır. Ayrıca PKOS, anovulasyona sekonder infertilitesi olan kadınlarda %75 gibi bir oranla en sık nedendir (100). İnfertil kadınların %25'inde PKOS vardır.

Androjen yüksekliği ile seyreden PKOS'lu kadınların %50'si çocuk sahibi olmakta zorlanırken bu oran hiperandrojenizm olmayan PKOS'lu kadınlarda %20 olarak rapor edilmiştir (101). Bu hastalarda yardımcı üreme teknikleri ile olumlu sonuçlar alınmaktadır.

PKOS etiyojisi ve patogenezi tam netleşmediğinden infertil hastalardaki yaklaşımda temel hedefler hiperandrojenizmin kontrol edilmesi, menstrual bozuklukların düzeltilmesi ve son yıllarda insülin direncinin PKOS gelişimi üzerinde önemli etkisi olduğu anlaşıldıktan sonra bu düzensizliğin giderilmesi olarak sıralanabilir.

PKOS'lu kadınları %50'si obezite sorunu yaşadıklarından bu konuda da infertil hastalarda mutlaka kilo verme ve uzun dönem sağlık risklerinin göz önünde bulundurduğumuzda yaşam tarzı değişikliklerini de önerilmesi gerekmektedir. Yaşam tarzı değişikliklerin over fonksiyonunu düzeltilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (102).

PKOS'lu hastalarda artmış androjenlere bağlı olarak folikülogenezde oluşan duraksama daha da fazla androjen sekresyonuna sebep olarak bir kısır döngü

oluşturmaktadır. Bu bulguların yanı sıra PKOS hastalığı yüksek insülin direnci ile de karakterize olup bu direnci tolere etmek için hiperinsülinemi geliştirdiği görülmektedir. Hiperinsülinemi direkt olarak teka hücre hiperplazisi oluşturarak ve indirekt olarak seks hormonlarını bağlayıcı globülini (SHBG) azaltarak vücutta dolaşan testosteron seviyesini artırmaktadır. Bu artmış insülin direnci metabolik sendromun parçası olup, hastalarda artmış kardiovasküler hastalık risklerine de katkıda bulunmaktadır. Bu bilgiler dâhilinde infertil hastalardaki amaçlar androjen seviyelerini düşürerek ovulasyonu sağlamak olarak özetlenebilir (102).

2.1.5.f. Gebelik Kaybı ve Gebelikteki Komplikasyonlar

Gebe kalan PKOS'lu kadınların, genel popülasyondaki yaklaşık %15 olan bazal oranla karşılaştırıldığında, artmış erken gebelik kaybı oranına (%30-50) sahip oldukları bilinmektedir (103). Bunun nedeni net olarak anlaşılamamıştır. Retrospektif ve gözlemsel çalışmalar, LH hipersekresyonu ile gebelik kaybı arasında ilişki olduğunu düşündürmüştür, ancak yapılan prospektif çalışmada GnRH agonistleri ile LH baskılandıktan sonraki gebelik sonuçları da başarısız olmuştur (103; 104).

ESHRE görüşlerine göre, obeziteden bağımsız, doğal yollarla konsepsiyon sağlanan PKOS'lu kadınlarda gebelik kaybı oranları artmış değildir, indüksiyon ile gebelik sağlanan grupta ise gebelik kaybı oranları, diğer infertil popülasyondaki durumu yansıtmaktadır (105) .

İnsülin direncinin gebelik kaybı ile ilişkili olduğunu ileri sürenler olmuştur. Bu amaçla insülin duyarlaştırıcı ajan metformin ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Gebelik boyunca metformin alan PKOS'lu kadınların daha az gebelik kaybına sahip olduğunun tespit edildiği çalışmalar mevcuttur (106; 94).

Yapılan başka bir çalışmanın değerlendirildiği metanaliz sonucu, PKOS'lu kadınlarda gebelik kaybı yönetiminde metforminin etkisini göstermede başarısız olmuştur (107). PKOS'lu kadınların konsepsiyon öncesi metformin kullanımı ve bunun gebelik sonuçları konusunda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

PKOS olan kadınlarda gestasyonel diyabet, gebeliğin neden olduğu hipertansiyon, erken doğum ve çoğul gebeliğe bağlı olmayan perinatal mortalitede iki ila üç kat artmış risk tanımlanmıştır (94) .

PKOS'lu kadınlarda ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ajanlara ya da in vitro

fertilizasyona (IVF) bağlı çoğul gebelik ve buna bağlı maternal ve fetal komplikasyonlar da artmıştır. PKOS'lu kadınların bebeklerinde morbidite ve mortalitenin artmış olabileceği belirtilmiştir (86).

2.1.5.g. Psikolojik Sonuçlar

PKOS'lu kadınlarda anksiyete, depresyon, azalmış zsayęı, yaşam kalitesi ve negatif vücut algısı gibi psikolojik hastalıkların prevalansı artmıştır (86; 108). Bu durumun hastalığın kendisine mi yoksa manifestasyonlarına mı (obezite, hirsutizm vs.) bağlı olduğu açık değildir (86).

2.1.6 PKOS ve İnflamasyon

Yapılan alışmalarda, PKOS'lu kadınlarda da birçok akut faz proteininin, inflamatuvar belirteçlerin yüksek olduğu saptanmıştır (109). PKOS proinflamatuvar bir durumdur. Geliştirilen bilgiler ışıkında; PKOS'ta oluşan metabolik anormalliklerin ve ovaryan disfonksiyonun altında yatan nedenin kronik düşük dereceli inflamasyon olduğu düşünülmektedir (11).

PKOS'ta hiperandrojenemiden insülin rezistansı sorumlu tutulmaktadır. Ancak bu durumda insülin direnci olmayan PKOS'lu hastalardaki hiperandrojenemi açıklanamamaktadır. PKOS'a bağlı insülin direncinin tetiklenmesinde inflamasyon esas tehdit olabilir. Bu konsept, inflamasyon, hiperandrojenizme direk olarak neden olabilir ihtimalini yükseltmiştir (11).

Düşük dereceli kronik inflamasyon, koroner arter hastalığı, insülin direnci ve tip II diyabet için bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (110). PKOS'ta özellikle diyete bağlı inflamasyon, insülin direnci için predispozan faktör olabilir. PKOS'ta glukozdan zengin beslenme, inflamatuvar cevabı stimule eden oksidatif stres faktörü olabilir (11).

PKOS'ta düşük dereceli kronik inflamasyon, CRP gibi yükselmiş birkaç markerın (110; 111; 112) , IL-6 (interlökin) ve IL-18 gibi inflamatuvar sitokinlerin (113) varlığı ve lökosit sayısının artması (114) ile gösterilmiştir.

Yapılan bir çalışmada PKOS'lu kadınlarda CAM (sellüler adezyon molekülleri) seviyelerinin artmış bulunması, PKOS patogenezinde kronik inflamasyonu desteklemektedir (14). Daha önce de insülin rezistansı patofizyolojisinde rol aldığını

belirtilen proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α bu belirteçlerdendir. TNF- α obezlerde ve obeziteden bağımsız olarak PKOS'ta yükselmiş olarak bulunmuştur (115). TNF- α 'nın PKOS'ta artmış bulunması, hastalığın proinflamatuvar bir durum olduğunun düşünülmesi için ilk ipucu olmuştur (11).

Mononükleer hücreler ve adipoz doku tarafından üretilen ve hepatik C Reaktif protein (CRP) üretimini indükleyen IL-6 da PKOS'lu kadınlarda yüksek saptanan diğer bir inflamatuvar belirteçtir (110). CRP ve IL-6'nın insülin direnci patogenezinde rol aldığı bilinmektedir. CRP yüksekliğinin, kardiyovasküler hastalık riskini arttırdığına ilişkin yayınlar vardır. İnflamasyonun en güçlü nonspesifik belirteci olan CRP, PKOS'lu kadınlarda sağlıklı kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuş, ayrıca hem sağlıklı grupta hem PKOS'lu grupta obezite ile pozitif korelasyonu olduğu gösterilmiştir (110). Yakın zamanda yapılan bir meta analiz sonucuna göre CRP, PKOS'ta düşük dereceli kronik inflamasyon için dolaşımda en güvenilir markerdir (113). Ancak, CRP yüksekliği obez olmayan hastalarda, PKOS'lu olup olmadığına bakılmaksızın obez hastalara göre çok daha nadirdir.

PKOS olgularında yükselmiş CRP, eşlik eden obezite nedenli olabilir. PKOS'a ait risk faktörlerini tanımlamada yanıltıcı olabilir. Bu haliyle PKOS'ta kardiyovasküler ya da metabolik riski tahmin etmede yetersiz kalmaktadır. Bu durum da, dolaşımdaki bir tek statik markerın moleküler düzeyde inflamasyonu yansıtmadığını düşündürmektedir (11).

Yapılan bir çalışmanın sonucunda araştırmacılar, CRP'nin düşük dereceli kronik inflamasyonu gösteren basit bir belirteç olmasından öte, kompleman aktivasyonu ve endotel disfonksiyonunu kolaylaştırarak aterosjenik sürece direk katkıda bulunuyor olabileceğini savunmuşlardır (116; 117).

PKOS'ta hiperandrojenemi ve inflamasyon arasında güçlü bir ilişki vardır. Güncel bilgiler, diyetle indüklenen inflamasyonun hiperandrojenemiye direk olarak uyardığını düşündürmektedir. Hiperandrojenizm kronik düşük dereceli stresin öncülü olabilir (11).

İnflamasyon direk olarak ovaryan aşırı androjen üretimini stimüle eder. Artmış abdominal yağlanmanın PKOS'taki inflamatuvar yüke katkıda bulunarak hiperandrojenizmin şiddeti ile kontrol edildiği düşünülmektedir (11). Hiperandrojenemik durumlarda, inflamatuvar markerlarda polimorfizm gibi genetik

anormallikler tanımlanmış olmasına rağmen hiperandrojenemi ve inflamasyon arasındaki ilişki tam aydınlatılamamıştır (118; 119).

PKOS ve inflamatuvar markerlarla ilgili yapılan bu çalışmalarda inflamatuvar belirteçler ve PKOS arasındaki sonuçlar çok çeşitlilik göstermektedir. Bazı yayınlarda bu değerler yüksek çıkarken, bazı yayınlarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar saptanamamıştır (120). PKOS'lu kadınlarda endotel disfonksiyonun olup olmadığına dair mevcut kanıtlar çelişkilidir (121; 122).

2.1.7-Ayırıcı Tanı:

PKOS tanısı konulurken ayırıcı tanı yapılması gereken durumlar:

- Androjen salgılayan tümörler
- Eksojen androjen alımı
- Cushing Sendromu
- Non-Klasik konjenital adrenal hiperplazi
- Akromegali
- Primer hipotalamik amenore
- Primer ovaryan yetmezlik
- Tiroid patolojileri
- Hiperprolaktinemi durumları
- Hipertekozis

2.1.8-Laboratuvar:

-**Testosteron:** Ani başlangıçlı ve klinik olarak hızlı bir gidişat gösteren virilizasyon durumunda ovaryan ve adrenal gland neoplazileri öncelikle ekarte edilmelidir. Bu şikayetler kliteromegali, şiddeti artan hirsutizm, akne, kas kütle artışı, erkek tipi alopesi ve seste kalınlaşma bu ciddi semptomlar arasındadır. Bu durumda PKOS'tan ziyade neoplaziler akla gelmeli ve ekarte edilmelidir.

>200 ng/dl bu neoplazilerin ulaşacağı testosteron seviyeleridir ve tanı için pelvik USG, BT ve MRG kullanılabilir. Kadınlarda yaklaşık %25'i overlerden, %25'i adrenal bezden salgılanır ve kalanı periferel dönüşüm ile elde edilir. Dolaşımdaki normal

düzeyi 20-80 ng/ml düzeylerindedir. Bu testosteronun %65'i SHBG'ye, %33'ü albümine bağlı ve %1-2'si serbest olarak dolaşımdadır.

- **Dehidroepiandrosteron:** Testosterondan oldukça daha az güçlü androjen prekürsörüdür. Ağırlıklı olarak adrenal bezde sentezlenir. DHEA çabuk metabolize olduğu için serum ölçümü adrenal bez aktivitesini yansıtmaz. DHEA-S daha uzun ömürlüdür ve budan dolayı da adrenal bez fonksiyonunun ölçümü için kullanılır. DHEA-S konsantrasyonu serumda 38-338 mcg/dl aralığındadır. PKOS hastalarında genelde minimal bir yükselme saptanır ve bu durum yönetimi değiştirmez.

-**Androstenedion:** Adrenal bez ve over tarafından üretilir ancak potansi yüksek olmadığı için ancak çok yüksek dozlarda etki gösterebilir.

-**Lüteinizan Hormon:** PKOS hastalarında LH düzeyleri artmıştır ve FSH düzeyleri baskılanmış veya normal olarak izlenir.

-**Prolaktin:** PKOS hastalarında %33 oranında prolaktin düzeyi de yüksek olarak görülür.

Sonuç olarak;

1. PKOS hastalarında LH/FSH oranı artmıştır.
2. %50 hastada DHEA-S artmıştır.
3. Testosteron ve androstenedion düzeyi kanda artmıştır.
4. Kan insülin düzeyi ve insülin rezistansı artmıştır.
5. Oligo-anovulatuvar hastalarda progesteron düzeyinde azalma izlenir.

2.1.9-Tedavi

PKOS için net bir tedavi modalitesi belirlenememiştir. Evrensel bilim dünyası bu konuda hala tartışma içerisindedir. Ortak düşünce her hastanın kendi klinik durumu ve şikâyetlerine göre tedavinin şekillendirilmesi ve bu yönde ilerlenilmesidir. Sadece overde polikistik görüntü olması ve hafif oligomenore durumlarında tedavi gerekemeyebilir.

Tedavi planlaması hiperandrojenizm, insülin rezistansına yönelik ve oligo-anovulasyon şeklinde olabilir. Ancak obeziteyi önleyici ve obeziteyi tedavi edici olmakla birlikte yaşam tarzı değişiklikleri PKOS tedavisinde elzemdir. PKOS'lu olgularda tedavinin uzun döneme yayılacağı ve şikâyetlere yönelik belirleneceği bilinmelidir.

2.1.9.a Yaşam tarzı değişiklikleri:

PKOS'lu olgularda en temel ve birinci öncelik yaşam tarzındaki değişikliklerdir. Beslenme tarzıyla ilgili henüz net bir konsensüs sağlanamamıştır. Kilo verilmesi; androjen fazlalığının, insülin direncinin, over boyut ve polikistik görünümünün azalarak ovulasyonun normale gelmesini ve dolayısı ile infertilitenin öncelikli tedavisidir. PKOS'lu obez hastaların %5 kilo vermesi bile 6 ay içerisinde metabolik ve hormonal bozuklukların düzelmesini ve ovulasyonun regüle olmasını sağlayabilmektedir (123). Kilo verilmesi ayrıca lipid profilinin de düzenlenmesinde faydalıdır (124).

2.1.9.b Antiandrojenler:

Spiranolakton: Hirsutizm tedavisinde kullanılan, potasyum tutucu bir aldosteron antagonisti bir diüretiktir. Günde 2 defa 25-100 mg dozda oral yoldan alınır. Genellikle oral kontraseptif ilaçların etki etmediği durumlarda tedaviye eklenir. Adrenal bezden ve overden androjen sentezini inhibe eder. Ek olarak androjenlerin periferik dokulardaki reseptörlerine blokaj yapar ve direkt olarak 5- α redüktaz enzim inhibisyonunda görev alır. 100-200 mg dozda 6 ay kullanımdan sonra terminal kıl çapında azalma ve yeni terminal kılların gelişimine engel olur. Gebelik durumunda erkek fetüste genital advers etkiler sebebiyle kontrasepsiyona dikkat edilmelidir.

Siproteron asetat: Hücre içi reseptörlere bağlanarak testosteron ve dihidrotestosteron'un etkisini bloke eden bir progesterondur. LH sekresyonunu azaltarak overden testosteron salınımını azaltır ve ayrıca androjen klirensini azaltarak androjenlerin etkisini antagonize eder.

Ketokonazol: 17-20 desmolaz enzim aktivitesini inhibe ederek adrenal glandlardan ve overlerden androjen üretimini baskılar. Yan etkileri sebebiyle uzun dönem tedavide kullanılmaz.

Finasterid: Tip-II 5- α redüktaz inhibitörüdür. Orijinal olarak prostat hipertrofisi ve kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. Etki mekanizması ile DHT aktivitesini azaltarak yeni kıl oluşumunu ve gelişimini önler, terminal kıl gövdesinin çapını küçültür. Oral yoldan 5mg olarak alınır. Fetal advers etkiler sebebiyle kontrasepsiyona dikkat edilmelidir.

Bikalutamid: Testosterona benzer yapısı ile testosteronun reseptörlerine bağlanmasını bloke eden antiandrojen grubu ilaçtır.

Flutamid: Asıl olarak prostat kanseri tedavisinde kullanılan androjenlerin reseptör blokajını yapan nonsteroidal bir anti-androjendir. 250 mg/gün verildiğinde yeni kıl gelişimini önler. Yan etkileri ciltte kuruluk ve nadiren karaciğer toksisitesidir. KCFT tedavi süresince dikkatle takip edilmelidir. Fetal advers etkiler sebebiyle etkili kontrasepsiyon yapılmalıdır.

2.1.9.c Oral kontraseptifler:

Fertilite beklentisi olmayan hiperandrojenik olgularda medikal tedavinin ilk basamağını oluştururlar. Etki mekanizması ise LH salınımının baskılanması ve buna bağlı olarak da overde androjen salgılanmasının azaltılmasıdır. Ayrıca SHBG miktarını artırarak dolaşımdaki serbest testosteron düzeyini azaltırlar.

Adrenal bezlerden androjen sentezini de azaltan OKS ajanlar, 5- α redüktaz enzim aktivitesini baskılar. Bu etkiler sonucunda kıllanma ve sebum üretilmesini azaltır. Ayrıca oligomenore tedavisi de sağlanmış olur. Eğer OKS ile tedavi suboptimal ise daha önceden belirttiğimiz gibi spironolakton ve finasterid gibi antiandrojenler tedaviye eklenebilir.

2.1.9.d Siklik progestinler

OKS tedavisi kontrendike veya arzu edilmiyor ise medroksiprogesteron asetat ile her ay veya iki ayda bir 5-10 mg/gün 12 gün boyunca verilerek düzenli kanamalar sağlanabilir. Böylelikle endometrium karşılanmamış östrojenin etkilerinden korunmuş olur (125).

2.1.9.e GNRH agonistleri

GNRH agonistleri kullanılarak hipofiz baskılanabilir. Bu durumda LH serum düzeyi azaltılarak overde androjen sentezi baskılanabilir. Hirsutizmin bu tedavisinin önemli yan etkilerinden biri osteoporozdur. Bu sebepten dolayı tedavinin 6 aydan uzun sürdürülmemesi önerilir.

2.1.9.f İnsülin duyarlılaştırıcı ilaçlar:

İnsülin duyarlılaştırıcı ilaçlar PKOS'ta infertilite sebebiyle ilk aşamada tek başına veya kombine tedavi olarak, klomifen sitrat dirençli olgularda, gonadotropinler ile beraber IVF'te, hiperandrojenizm durumunda, metabolik sendromda, uzun dönemdeki PKOS komplikasyonlarına yönelik kullanılabilir.

Metformin: Biguanid grubunda yer alan en sık ve en eski oral antidiyabetiklerden biridir. Karaciğerde glikojenolizi artırır, glukoneogenezi azaltır.. Hiperandrojenizm üzerine etkisi de SHBG yapımını arttırarak ve serbest testosteron düzeyini düşürerek yapar. SHBG miktarındaki artış ve serbest testosteron düzeyindeki azalma menstüel siklusların düzenlenmesine, hirsutizm şikâyetlerinin gerilemesine ve kilo kaybına sebep olur.

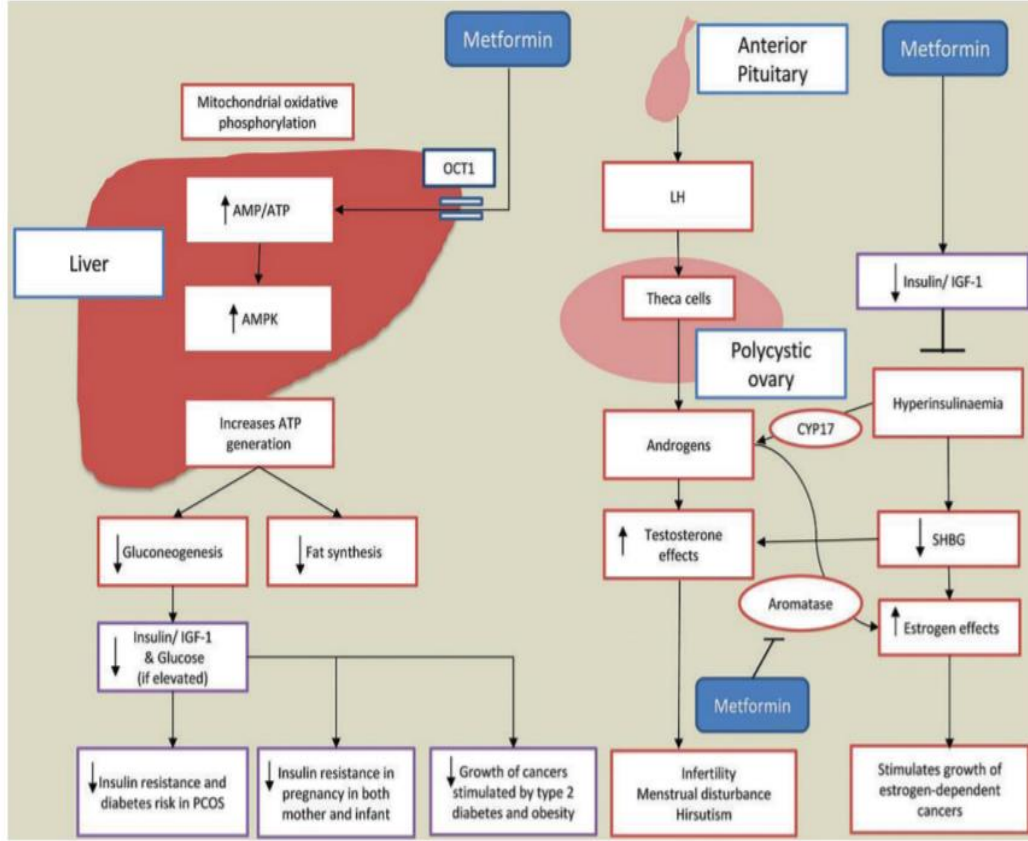
Menstrüel siklusun düzenlenmesi sebebiyle infertiliteye de etkilidir. Metformin ayrıca HDL'yi yükseltir, LDL ve trigliserid azalmasına, plazma açlık insülin düzeylerinde azalmaya sebep olur ve fibrinolitik sistem ve enflamasyon sistemi üzerine de pozitif etkilidir (126).

PKOS'da metformin insülin ve androjen seviyesini azaltır. Antiaromataz etkiyle östrojen seviyelerini de azaltarak östrojene bağımlı kanserlerin gelişimini inhibe eder (Şekil 3). PKOS hastalarında uygun doz 1000-2000 mg olarak belirlenir. En sık görülen yan etkiler ise ishal, bulantı, şişkinlik olarak sıralanabilir.

Tiazolidinedionlar (TZD): Nükleer reseptör PPAR- γ 'a bağlanan sentetik bir gland olan ve glitazonlar olarak da adlandırılan başka grup insülin sensitizandır. PPAR- γ 'nın aktifleşmesi sonucunda yağ ve kas dokusu başta olmak üzere insülin duyarlılığı artır.

Bu grubun ilk ilacı Troglitazondur ve hepatotoksisite yaptığı için 2000 yılında toplatılmıştır. Diğer bir grup üyesi Rosiglitazon PKOS'lu olgularda ovarian androjen üretimini baskılamış, insülin direncinin azalmasını sağlamış, spontan ovulasyonu arttırmış ve lipid profilinde düzelmeler sağlanmıştır. Ancak 2010 yılında yapılan çalışma ile kardiyovasküler açıdan riskli bulunmuştur ve kardiyovasküler risk altındaki popülasyona kullanımı kısıtlanmıştır. Bir başka grup üyesi Pioglitazon da Rosiglitazon benzeri etkilere sahiptir.

Tiazolidinedionların kullanımında KCFT yakın takip edilmelidir (127).



Şekil 3-PKOS'da Metforminin Etkileri

İnositol grubu: Hücre membranının bir yapı elemanı ve B vitamini üyesidir. 9 farklı formu bulunur ancak PKOS için önemi görülen Myo-inositol (MYO) ve DChiro-inositol (DCI) formlarıdır. Hücre içinde kalsiyum metabolizmasında rol alır ve oosit gelişiminde faydalı olurlar. MYO; glukoz transport, metabolizma ve glikojen üretiminde etkili iken DCI ise Krebs döngüsünde glukozun kullanılmasını sağlayan enzimleri etkiler. Bu etkiler bakımından birbirinin etkilerini artırıcı iki gruptur.

MYO'nun follikül sıvısında fazlaca olması oosit kalitesini gösterir. MYO; plazmada insülin düzeyini, glukoz/insülin seviyesini, LH'ı, LH/FSH oranını, HOMA indeksini, testosteron ve prolaktin düzeyini azaltır. Ayrıca dolaşımdaki leptin düzeyini azaltarak kilo verdirici etkisi vardır. Bu etkilerden dolayı düzenli ovulasyona da etki eder. Ayrıca HDL düzeyini artırır ve bu durum PKOS'lu olgularda kardiyovasküler korumada umut vericidir. IVF sikluslarında OHSS gelişme riski yüksektir. Tedavi esnasında gonadotropinlere ek olarak MYO eklenen protokollerde HCG uygulaması sonrası östrodiol seviyelerinde anormal artışların önüne geçilmektedir. Bu etkisi ile OHSS'ye karşı koruyucu olduğu söylenebilir.

2.1.9.g Eflornitin Hidroklorid:

Lokal olarak uygulanabilen, yüzde istenmeyen tüyleri azaltan ornitin dekarboksilaz antagonisti bir krem formunda ilaçtır. Kıl folikülünün büyümesini engeller ancak tedavi bitirildikten sonra eski haline dönebilir.

2.1.9.h Cerrahi Tedavi:

Bilateral ovaryen wedge (kama) rezeksiyon: Ovulasyon indüksiyonunu başarı ile sağlarken hirsutizm için önerilmemektedir. Çünkü androjen düzeylerine pek etki göstermemektedir. Gebelik oranı düşüktür. Periovaryen adezyon oluşma ihtimali vardır. Prematür ovaryan yetmezlik ve infertiliteye sebep olabilir.

Overlerin laparoskopik drilling işlemi: İşlem sonrası vakaların %75'inde spontan ovulasyon gerçekleşmiş ve bu olguların %72'sinde spontan gebelik gözlenmiştir. İşlem androjen düzeyini düşürür, LH'ın azalmasını, FSH'ın artmasını sağlar. Adezyonlar işlem sonrası oluşabilecek yan etkidir.

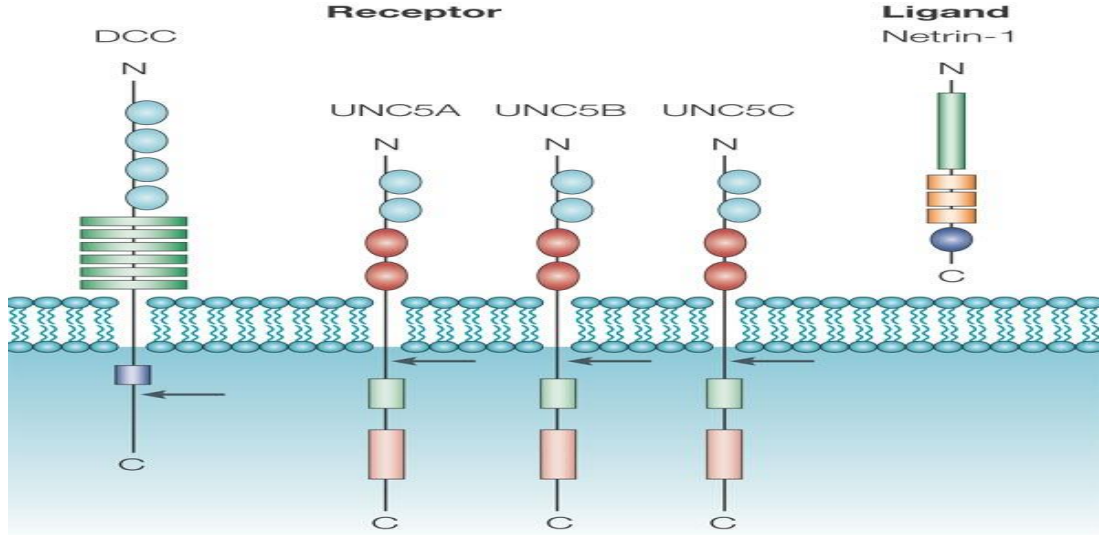
Bariatrik cerrahi: PKOS'lu olgulardaki endikasyon normal popülasyondan farklı değildir (BMI ≥ 40 kg/m² veya kilo kaybı ile iyileşebilecek komorbid hastalığı olanlar).

2.2 NETRİNLER

Netrinler nöral ve vasküler gelişim için önemli öncü proteinlerdir (128). Rapor edilen ilk netrinin nematod solucanı olan *Caenorhabditis elegans*'da bulunduğu tespit edilmiştir (129). Netrin-1, 50-75 kD ağırlığında laminin benzeri bir proteindir (130). Bütün netrinler laminin süper familyasının üyeleridir. Netrin 1, 2 ve 3'ün amino terminal dizilişinin 2/3'ü laminin-y1 zincirinde görülen amino-terminal dizilişine benzemektedir (131; 132) ve G1, G2 ve 4 netrinlerinin amino-terminal zincirleri ise en çok laminin- $\beta 1$ zincirinin amino terminal dizilişine benzemektedir (133).

Omurgalılarda birden fazla netrin geni bulunmaktadır. Memeliler için 5 netrin proteini tanımlanmıştır (1, 3, 4, G1 ve G2). Netrin 1-4 salgılanabilirken, G1 ve G2 netrinleri plazma membranına karboksi-terminal glukozilfosfatidilinozitol (gpi) kuyukları ile bağlanır ve reseptör görevi görürler. G netrinlerinin netrin 1, 2 ve 3'den bağımsız geliştiği düşünülmektedir ve G netrinleri sadece omurgalı hayvan türlerinde görülmektedir (134).

Netrin reseptörleri; Deleted in Colorectal Cancer (DCC), Down Sendromu hücre adezyon molekülü (DSCAM) ve UNC 5 (UNC 5 A, B, C ve D) denilen üç ana reseptör ailesidir (135; 136) (Resim 4).



Resim 4- Netrin Reseptörleri

Netrin-1 ve reseptörlerinin memelilerde nöral dokular dışında etkinliği görülen diğer organlar memeli bezleri, pankreas, akciğerler, böbrekler, bağırsaklar, karaciğer ve dalaktır (135; 137).

Vertebralılar UNC5A-D olarak adlandırılan 4 adet homolog Netrin-1 reseptörüne sahiptir. UNC5 proteinleri transmembran proteinleridir. Ekstraselüler parçası immunoglobulin ve trombospondin tip-1'den, intraselüler parçası ise ZU-5, DCC bağlanma bölgesi ve ölü kısımdan oluşur. ZU-5 apoptotik sinyal ile ilişkilidir. Netrin immunoglobuline bağlanır (135; 136; 138).

Diğer bir netrin reseptörü DSCAM'dir. Ekstraselüler parçası immunoglobulin ve fibronectin III'den oluşur. Netrin-1 DSCAM immunoglobulin kısmına bağlanır. Gelişim esnasında netrin bağımlı akson rehberliğinde rol alır (135; 136).

Netrin-1 embriyonik nöral tüpün ventral orta hattında, özelleşmiş sekretuar hücre grubunda ve santral sinir sisteminde myelizan hücre ve oligodentrositlerden sentezlenir. Ayrıca memelilerde gelişmekte olan santral sinir sisteminin diğer bölgelerinden (vizuel sistem, olfaktör sistem, ön beyin ve serebellum) salgınır (139; 140; 141). Netrin-1 gelişim süresince bu beyin bölgelerinde akson migrasyonu ve

hücre regülasyonunu sağlar. Netrin-1 enterik sinir sistemi gelişiminde nöronal kılavuzluk yapan iyi karakterize edilmiş bir kemoatraktandır (142).

Netrin ekspresyonu merkezi sinir sisteminin yanı sıra akciğer, meme bezi ve son zamanlarda da plasentada gözlemlenmiştir (143; 144). Aynı zamanda Netrin-1; somatik mezoderm, meme bezi, pankreas, dorsal aorta ve kalp kasında, yetişkinlerde ise spinal kord nöronlarında oligodentrositlerde ve yumurtalıklarda yüksek oranda vardır (135; 145).

Netrinler biyolojik süreçte hücre göçü, adhezyon, farklılaşma, hayatta kalma ve anjiyogenezde de rol alır (137). Netrin-1, endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezinde, tümör büyümesinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yapar. Sitoiskeletin reorganizasyonunda önemlidir.

Netrin-1 geni 17p13-P12 bölgesinde bulunmaktadır (143; 144; 137).

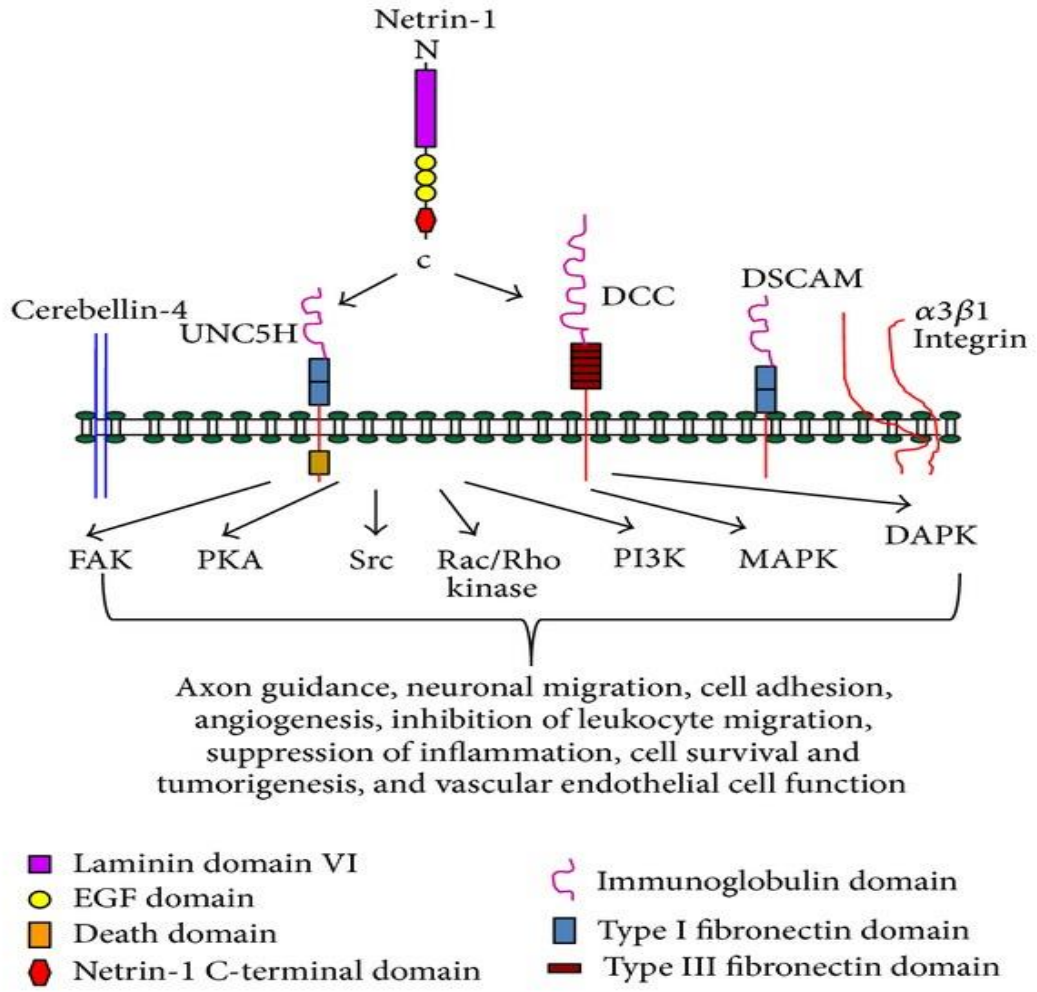
Netrin-1 bazı durumlarda onkogen olarak davranır. İnflamasyon, anjiogenez ve apoptozun düzenlenmesindeki rolü olması nedeniyle, Netrin 1'in çeşitli hastalıklar veya kanserlerde biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (146; 137).

Netrin-1, inflamatuvar hücrelerin enfeksiyon alanına göçünde, enfeksiyonun sınırlandırılmasında ve immün cevapta çok önemlidir. Ancak bu hücrelerin organlara uygun olmayan geçişleri doku yıkımına neden olabilmektedir. Netrin-1 inflamasyon esnasında dokuya lökosit göçünü düzenleyici role sahiptir.

Netrin-1, vasküler endotelden inflamatuvar hücrelerin penetrasyonunda bariyer görevi yapmaktadır. Ancak enfeksiyon durumunda bu bariyerin geçirgenliği artmakta ve lökositlerin etkilenen dokuya penetrasyonuna izin vermektedir. Netrin-1 lökosit geçişini sınırlamakta, bu durum da doku yıkımını önlemektedir (Şekil 4).

Netrin-1 düzenleyici etkisini reseptörleri sayesinde yapabilmektedir. Lökosit yüzeylerinde UNC5b reseptörleri görülen çalışmalar mevcuttur (146).

Netrin-1'in anti-inflamatuvar etkisi akut inflamasyonlu fare modellerinde gözlenmiştir (147; 148). Netrin-1 lipopolisakkarit (LPS) indüklediği sepsis boyunca lökosit migrasyon inhibisyonu ile inflamasyonu hafiflettiği gösterilmiştir (147).



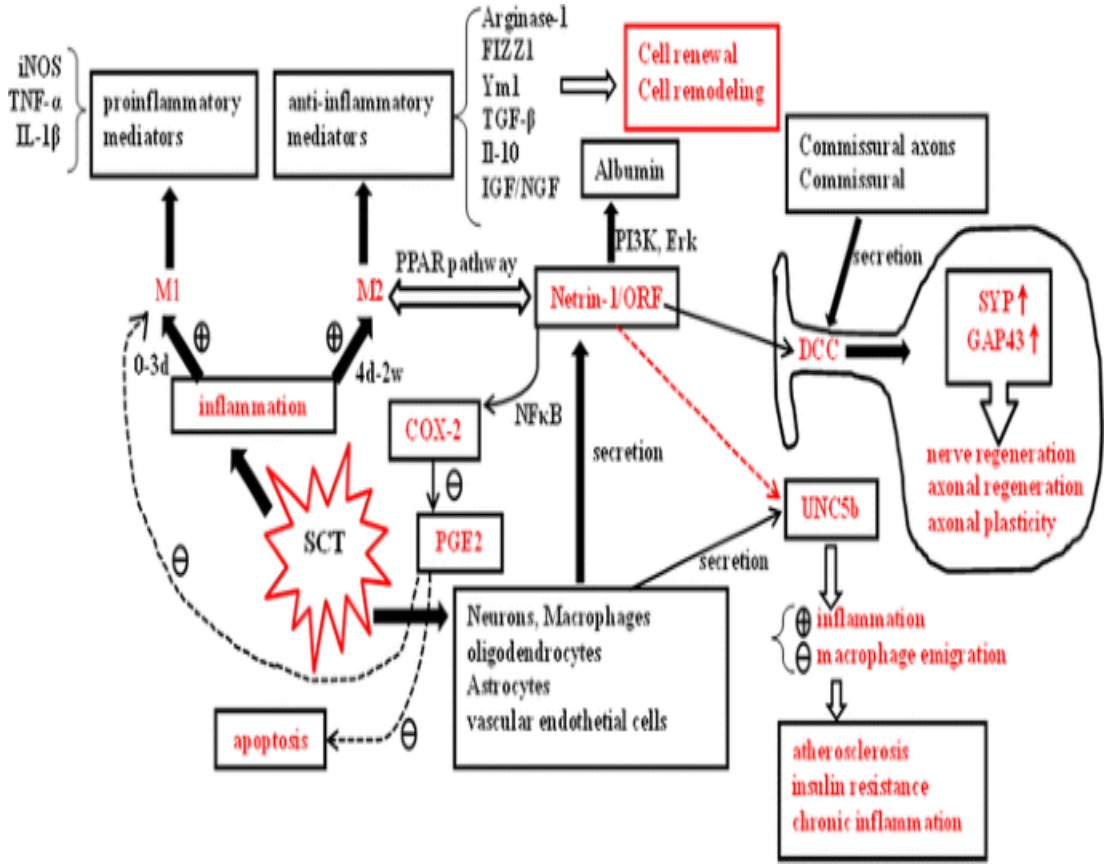
Şekil 4- Netrin-1 Yolakları

Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı, hipoksi ile indüklenen inflamasyon (148), akut akciğer hasarı (149; 150) ve peritonit (151) için yapılan çalışmalar inflamasyon supresyonu yoluyla netrin-1'in doku koruyucu rolünün olduğu gösterilmiştir.

Netrin-1, akut inflamatuvar bölgeye lökosit hareketini sağlar (152). Çalışmalar netrin-1'in A2BAR reseptör proteinini aktive ederek antiinflamatuvar etkiye katıldığını göstermiştir (153; 154). (Tablo 4)

Bir nöroimmün rehberlik işareti olan Netrin-1, embriyonik pankreas gelişiminde önemli bir rol oynar. İntegral proteinler $\alpha 6\beta 4$ ve $\alpha 3\beta 1$ ile birleşir ve nöronal hücre göçündeki işlevinden farklı olan pankreatik epitel hücre yapışmasını ve göçünü inhibe eder. Migrasyon inhibisyonuna ek olarak, netrin-1 ayrıca inflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini de baskılar.

Tablo 4- Netrin-1 Etki Mekanizması



Netrin-1 ekspresyonu, makrofajlarda doymuş yağ asidi palmitatı tarafından indüklenir ve makrofaj göçünü bloke etmek için reseptörü Unc5b aracılığıyla etki eder. Diyetle indüklenen obezitenin bir fare modelinde, adipoz doku makrofajlarının, netrin-1'i bloke ederek geri yüklenebilen azaltılmış göç kapasitesi sergilediği gösterilmiştir. Ayrıca, Netrin-1'in hematopoetik delesyonu, yağ dokusu makrofaj göçünü kolaylaştırır, iltihabı azaltır ve insülin duyarlılığını artırır. Toplu olarak, bu bulgular netrin-1'i obezite sırasında yağ dokusunda kronik inflamasyonu ve insülin direncini teşvik eden bir makrofaj tutma sinyali olarak tanımlar.

Son zamanlarda, bazı çalışmalar netrin-1'in, nükleer faktör kappa B aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu düzenleyebileceğini ve M2 benzeri fenotipe makrofaj farklılaşmasını teşvik edebileceğini göstermektedir.

Bu nedenle netrin-1, insülin direncinin ve insülin direnci ile yakın ilişki içinde olan PKOS gelişimindeki enflamatuar mekanizmada rol oynayabilir.

2.3 OKSİDATİF STRES

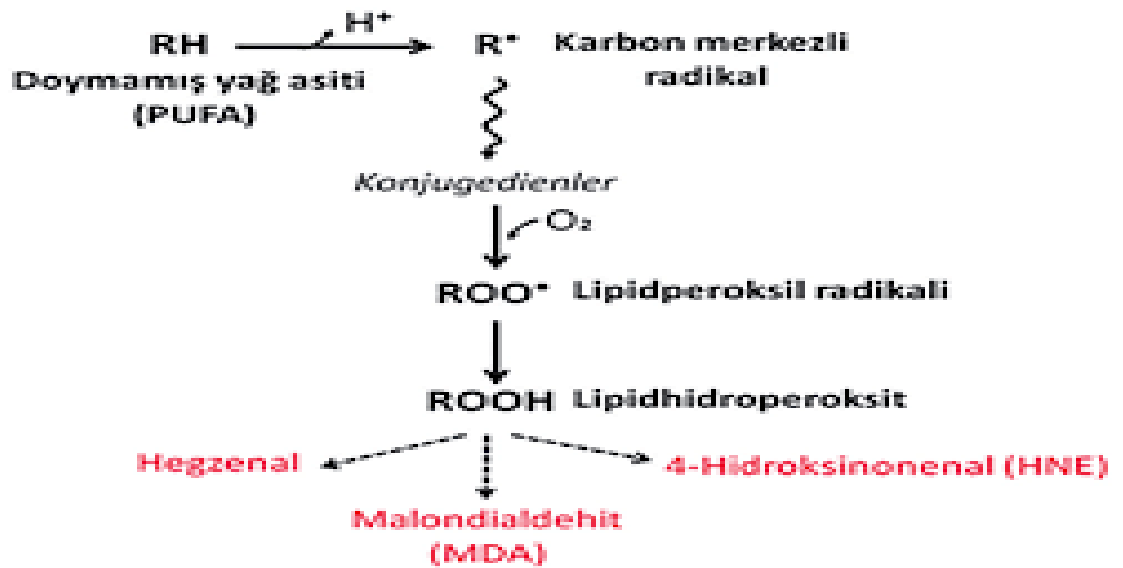
Oksidatif stres serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. İnsülin direnci ve diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve non enzimatik antioksidan savunma sistemlerine sahiptir (155; 156).

Düşük insülin sensitivitesinin oksidatif stresin nedeni olabileceği ve serbest radikal üretimine yol açacağı ileri sürülmektedir (156). Yüksek glukoz düzeyleri, oksidatif stresi uyarır ve antioksidan savunma mekanizmalarını baskılar. Bu durum serbest radikal oluşumunu artırır.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS = Reactive Oxygen Species) ölçümü, yüksek reaktiviteleri, yarı ömürlerinin kısa oluşu ve düşük konsantrasyonda bulunmaları nedeni ile zordur. Bu nedenle reaktif oksijen ürünlerinin neden olduğu hasarın değerlendirilmesinde indirekt belirteçler kullanılır. Oksidatif stresin uyarılması, DNA, protein ve lipidlerin modifikasyonunu içeren hücrel hasara neden olabilir.

Lipid peroksidasyonu, poliinsatüre yağ asitlerinin oksidatif hasarıdır. Oluşan son ürünler, yeni oksidatif risk yaratabilir. Malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonu sonucu oluşan bir üründür (157) (Tablo 5).

Tablo 5- MDA Oluşumu

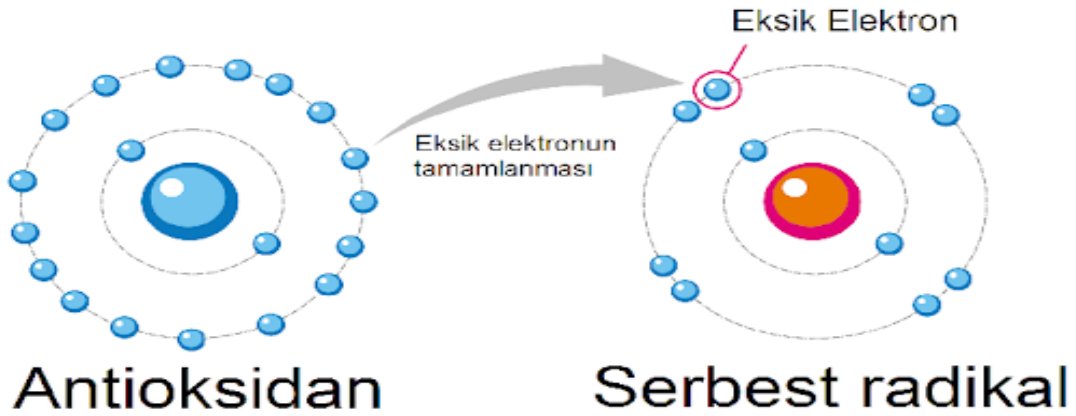


Hücre içinde süperoksit ve hidrojen peroksit aracılı hasara karşı ilk savunma, antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile olur.

2.3.1. Serbest Radikaller:

Doku ve hücre hasarı oluşumundaki rolleri ile serbest oksijen radikalleri son yıllarda tıbbın en ilgi çekici konularından biri durumuna gelmiştir. Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler (158; 159).

Serbest radikalde bulunan eşleşmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içinde başka bir elektronla spin paylaşmadığından bu radikaller, ekstra elektronları başka atomlara lokalize olana kadar ya da elektron alınca kadar oldukça reaktiftirler. Bu reaktif maddeler, diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek onları da kararsız hale getirirler (159; 160) (Resim 5).



Resim 5-Antioksidanların Serbest Radikallere Elektron Transportu

Serbest radikaller yaşam süreleri çok kısa olmasına karşın, yüksek aktiviteleri nedeniyle organizmada yüksek düzeyde tahrip edicidirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında denge olduğu sürece, organizma bundan etkilenmemektedir. Bu denge bozulduğunda, oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır.

Bunun sonucunda, hücrenel metabolizma işleyişi bozulur, oluşan moleküler yıkım ile kalp, böbrek, karaciğer, mide, akciğer, beyin gibi birçoğu yaşamsal öneme sahip organlarda doku hasarı meydana gelir (159; 161; 162).

2.3.1.1 Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşum Kaynakları:

Serbest radikal oluşturan kaynaklar, endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

2.3.1.1.1 Endojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları:

Organizmada çoğu fizyolojik olay sırasında küçük miktarlarda serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Bunlar antimikrobiyal savunma, sinyal iletimi gibi işlevlerde rol oynadıktan sonra antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilirler.

Hücrenin tüm bileşenleri radikal oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Özellikle mitokondriyal elektron transport zinciri endojen kaynaklı radikallerin olduğu en önemli yerdir (163; 164).

Mitokondriyal solunum zinciri sırasında NADH ve FADH₂ gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması olayında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır (161; 163; 165).

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Elektron transport sistemlerinin aktivitesi sırasında sadece oksijen türevi radikaller meydana gelirken, ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında ek olarak yüksek toksik özelliğe sahip karbon merkezli radikaller de meydana gelebilir.

Nükleer membran kaynaklı radikaller özellikle DNA hasarına neden olabilirler (165; 166).

Peroksizomlar, önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bol miktarda hidrojen peroksit (H₂O₂) üretimine sebep olurlar. Ancak katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir (161; 165).

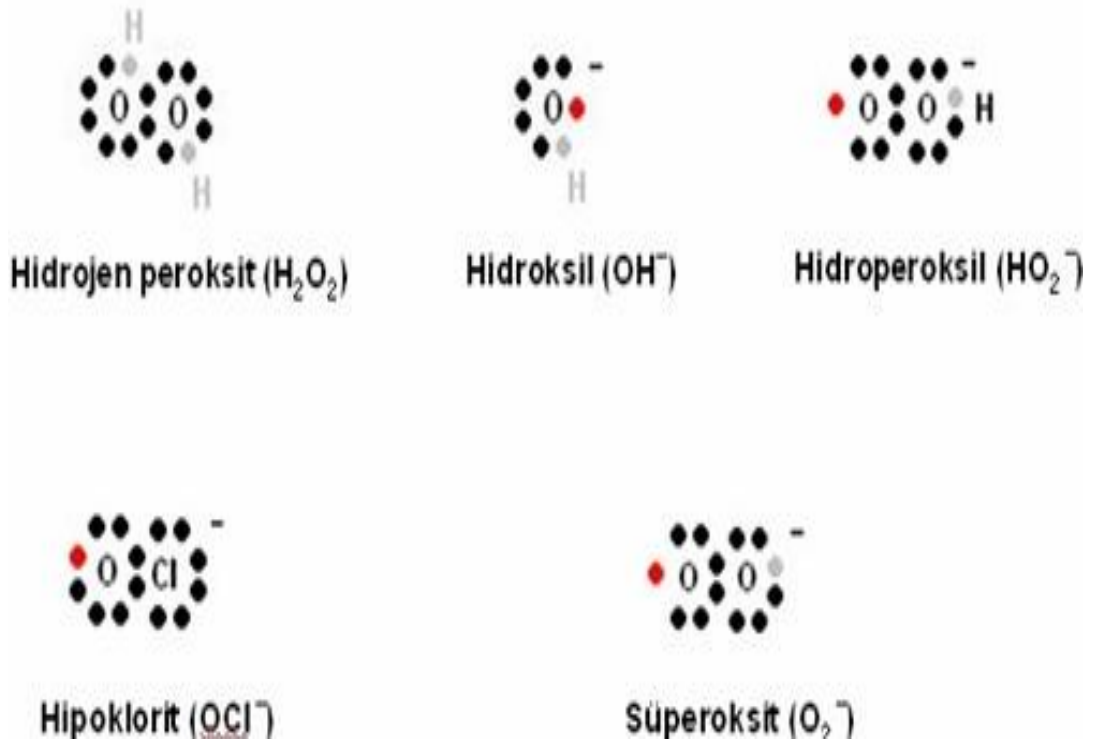
2.3.1.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları:

Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında sigara, pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, alkol, güneş ışınları, stres, X-ışınları hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler en önemlileridir. Ağır bedensel aktivite de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikal oluşumunu artırmaktadır (161; 167; 168).

Kimyasal ve organik maddelerin yanması ile açığa çıkan özel maddelerin, radikallerin olası kaynakları ve taşıyıcıları olduğu ileri sürülmektedir.

2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS):

Serbest oksijen radikalleri; singlet oksijen radikali, süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve hidroksil radikali olup bu radikaller oksijenli solunum metabolizması esnasında oluşurlar. Bu radikallerin yarılanma ömürleri birkaç milisaniye ile saatler arasında değişmektedir (169) (Resim 6).



Resim 6- Serbest Oksijen Radikalleri

Moleküler oksijen, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü sebebiyle hayati bir öneme sahiptir. Moleküler oksijenin toksik etkisi yoktur, fakat aerobik hücre metabolizmasında moleküler oksijen, serbest oksijen radikallerine dönüşür.

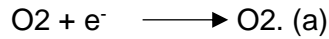
Enzim reaksiyonları da ROS oluşumuna neden olmaktadır (170). Ayrıca oksijen radikalleri doku hasarına neden oldukları için daha bir önem kazanmaktadırlar (171).

Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse "oksijen radikali" elde edilir.

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler.

2.3.2.1. Süperoksit Radikalleri (O₂·)

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle süperoksit radikal anyonu (O₂·) (a) meydana gelir. Süperoksit nitrik oksitle reaksiyona girerek azot dioksit (NO₂), hidroksil radikali (OH·), nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti (b) (ONOO⁻) oluşturur.



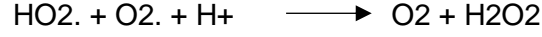
Genellikle hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri indirgeyicisi olarak bilinir (172). Süperoksit radikali mitokondriyal solunum sırasında oluşur. Mitokondrielerde kullanılan oksijenin %2'si süperoksit haline dönüşür.

Oksijen mitokondride indirgendiğinde primer ürün sudur (173; 174). Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerin elektronlarını çekerek enerji gereksinimlerini karşılarlar, hem oksitleyici hem de redükleyici anyonlar olarak bilinirler (173; 165).

Süperoksit indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyon reaksiyonu ile de oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür.



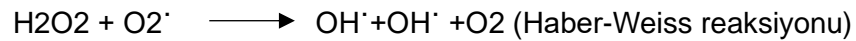
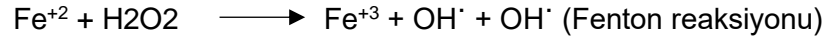
Süperoksit düşük pH' da protonlanarak perhidroksil (HO₂.) radikalini oluşturur. Süperoksit ve perhidroksil radikali süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığı ile etkileştiğinde biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O₂ ve H₂O₂ oluşur (165; 175).



2.3.2.2. Hidroksil Radikalleri (HO[·])

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikal olarak bilinir. Hidroksil radikalının en güçlü serbest radikal olmasının nedeni hücre nükleusundaki membran bariyerleri kolayca geçmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkilemesidir. Bu nedenle in vivo oluşan bir OH[·] radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (165; 176; 177).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (165; 178).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (165; 179). Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperoksitlere çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur.

Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de Malondialdehitdir (180).

Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur. Ancak normalde OH[·] radikali oluşmaz. Çünkü OH[·] oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur.

OH[·] meydana gelebilmesi için O₂^{·-} ve H₂O₂ gereklidir. Bunlarda SOD, CAT veya GSH-Px enzim sistemiyle uzaklaştırılır. Böylece fizyolojik şartlarda fazla miktarda OH[·] oluşmaz. Bu üç enzim intrasellüler majör antioksidanlardır (177) (181).

2.3.2.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂^{·-}) hidrojenle yaptığı reaksiyona Dismutasyon Reaksiyonu adı verilir ve dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (182; 183). Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;



Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O₂^{·-} veya H₂O₂ oluşmasını sağlarlar.

2.3.3. Serbest Radikallerin Etkileri:

Vücutta serbest radikaller ile antioksidan savunma mekanizması arasında bir homeostaz vardır. Bu denge oksidanlar lehine bozulduğunda, serbest radikaller karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküller ile etkileşerek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olur (165; 184; 185).

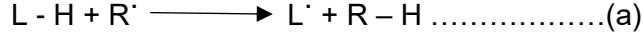
2.3.3.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri:

Tüm biyomoleküller serbest radikal atağına maruz kalır ancak bunların içinde lipidler en kolay etkilenenlerdir (184). Hücre, membranı ve diğer komponentleri ile serbest radikal atakları ve peroksidasyon için potansiyel bir hedeftir (186; 187). Tüm biyolojik zarlar çoklu doymamış yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonunu içeren kimyasal bir otokatalitik zincir reaksiyonu olup, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanır (185; 188; 189).

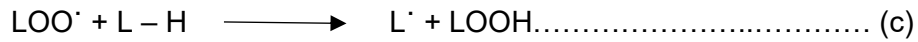
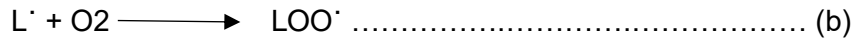
Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan OH[·] radikalinin membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırması ile oluşur (165; 190).

Lipid peroksidasyonu üç temel aşamadan meydana gelir;

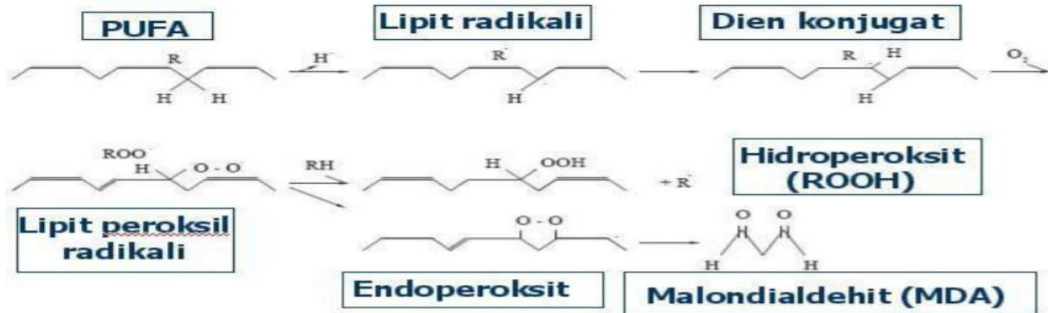
1. Başlangıç Aşaması (a)
2. Çoğalma aşaması (b,c)
3. Sonlanma aşaması (d)



Lipid Hidroperoksit genellikle çoklu doymamış yağ asidi (PUFA)'dir. Başlangıçta yüksek enerjili bir elektronlu (OH[·] gibi) radikal yağ asidi zincirinden bir hidrojen çekerek karbon merkezli bir radikal (L[·]) oluşturur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğraması ile molekül içi çift bağların değişmesi sonucu konjuge dien yapıları oluşur. Oluşan değişikliklerin ardından lipid radikali hemen dioksijenle reaksiyona girer ve lipid peroksil radikalini oluşturur (b). LOO[·] çoğalma turlarının zincir taşıyıcı radikalidir (c)



Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu lipid peroksidasyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma tepkimeleri ile devam eder (185) (Şekil 5).



Şekil 5-Lipid Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonları bozulur ve hücre kolloba olur. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşurlar.

Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenaldır.

MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonu değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrenel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarı hücrenin diğer bölgelerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir.

Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilir. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler (165; 191; 192).

2.3.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri:

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (193);

1. Amino asitlerin modifikasyonu
2. Proteinlerin fragmantasyonu
3. Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Aromatik aminoasitlerde (fenilalanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar olduğundan oksidatif ataklara çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas amino asitlerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (194).

Serbest radikaller etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O₂ veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur (195).

2.3.3.3 Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri:

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine sebep olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır (196; 197).

Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir. DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe^{+2/+3} ve Cu^{+1/+2} iyonları negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler.

Redoks aktif transisyon metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü H₂O₂'in hedefi haline getirmektedir. DNA'ya bağlı metal iyonları ile H₂O₂'in DNA üzerinde reaksiyonlaşmasından oluşan OH radikalleri, OH radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmamaktadır. Ayrıca, OH radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir (198).

Aktive olmuş nütrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (189; 196; 199). Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazı bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarına atak yapabilir ve mutasyonlara sebep olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer.

DNA'da oksidatif hasar ile ilk oluşan lezyon dal kırıklarıdır. Dal kırıkları DNA onarımı sırasında nükleaz aktivitesi ile de oluşabileceğinden her zaman oksidatif DNA hasarını göstermemektedir. Tek dal kırıklarında, diğer daldaki bilgi doğru okunarak 'hasarlı dal onarıcı enzimlerle' onarılabildiğinden çift dal kırıkları daha önemlidir. OH radikali pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirmektedir. Örneğin; bir pürin olan guaninin 4, 5 veya 8 pozisyonlarındaki C atomlarına veya adeninin 4, 5, 6 pozisyonlarındaki C atomlarına OH radikali katılarak çeşitli ürünler oluşmaktadır. Günümüzde 100 kadar oksidatif DNA baz hasarı tanımlanmıştır (200).

2.3.3.4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri:

Glukoz otooksidasyonu, taşıyıcı metallerin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda glukozun kısmen radikal olan anyonları oluşturması ile meydana gelir. Bu radikaller, daha sonra O₂'i indirgeyerek O₂⁻ anyonunu meydana getirirler. Bu da diğer ROS'ların oluşumunu tetikler. Proteinlerin glikolizasyonu, glukozun, proteinlerin amino grubuna bağlanmasıyla başlar. Bunun ardından bir seri kimyasal modifikasyon geçirerek, daha kararlı bir yapı olan protein-glukoz kompleksine dönüşür. Biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan glikolize proteinler ise, Cu ve Fe varlığında, O₂'ye elektron vererek ROS'ların oluşmasına neden olurlar (201; 202).

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda H₂O₂, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar (189).

2.3.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları:

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak Antioksidanlar denir (203; 204).

Etkilerini; lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyerek, geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikaller ile reaksiyona girip zinciri kırarak gösterirler.

Antioksidanlar; intraselüler ve ekstraselüler olmak üzere iki grupta incelenirler. En belirgin özellikleri okside olan substratlara oranla çok daha az konsantrasyonlarda bile substratın oksidasyonunu geciktirmeleri ve inhibe etmeleridir (205).

Antioksidanlar etkilerini şimdiye kadar tespit edilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (189; 205; 204). Bu mekanizmalar birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedir;

- I. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.
- II. Hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
- III. Membran lipidlerini direkt etkileyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni baskılayabilir veya temizleyebilirler (205).
- IV. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların ($\text{OH}\cdot$, ferril ya da $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}/\text{O}_2$ kompleksleri gibi) ve/veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda lipid peroksidasyonunun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç hem de oluşan lipid peroksitlerin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğuna dair genel bir kanı vardır.
- V. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GPx, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
- VI. Zincir kırabilirler. Yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilir ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar için de fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan a-tokoferol yer almakla birlikte başka lipid solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (205).

Lipid peroksidasyonunu yukarıdaki mekanizmalardan ilk dört tanesi ile önleyenler 'Koruyucu Antioksidanlar' olarak kabul edilmektedir.

Dördüncü mekanizma ile etki edenler reaksiyon sırasında tüketilmezler.

Beşinci mekanizma ile etki eden antioksidanlar ise koruyucu olmakla birlikte reaksiyon sırasında kimyasal karakterlere göre tüketilebilir veya tüketilemezler.

Altıncı mekanizma ile etki eden zincir kırıcı antioksidanlar ise zincir uzama reaksiyonlarına neden olan radikallerle kompleks yaptıklarından kırma reaksiyonu sürecinde tüketilirler.

Burada özellikle vurgulanması gereken nokta antioksidanların pek çoğunun tek bir mekanizma üzerinden etki etmediği, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturduğudur. Ek olarak oksidatif hasarın hızlı tamiri ki bu, peroksidize yağ asitlerinin membran lipidleri arasından temizlenmesi şeklinde olur ve lipid peroksidasyonunu yavaşlatabilir. Membrandaki yapısal değişiklikler de peroksidabiliteye etki edebilir.

Antioksidanlar sadece lipidlerin değil, belki okside olmaları çok daha zararlı olabilen DNA ve proteinlerin de korunmasında etkilidir (197; 205).

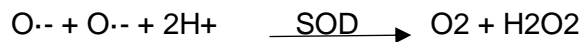
Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre haraplanmasının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayrımlanan beş değişik blokta yürür (185).

Bazı otoriteler antioksidan savunmayı komponentlerin enzimsel olup olmamasına bakarak, katalaz, SOD ve GSHPx'ın rol aldığı antioksidan aktiviteleri 'Enzimatik antioksidan savunma'; tokoferol, askorbat, glutatyon, ürik asit, glukoz gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini 'Enzimatik olmayan antioksidan savunma' olarak tanımlar (206).

2.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar:

2.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksitin H₂O₂' e dismutasyonunun katalizleyen SOD enzimidir (181; 203; 207). SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intraselüler savunmada büyük rol oynar ve aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak bir azalma olmaktadır (208).



SOD enzimi kofaktör olarak içerdiği metal iyonu tipine göre üç sınıfta toplanır (209). İnsanda SOD' un iki tipi bulunmaktadır;

1. Sitozolik SOD: Yapısında bakır ve çinko (CuZn-SOD) bulunmaktadır. İlk defa 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alan enzimin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32000 daltondur. Birbirinin aynı olan iki alt üniteden meydana gelir. Her subünitede bir Cu atomu, bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir asetillenmiş terminal amino grubu bulunduğu tespit edilmiştir (161).

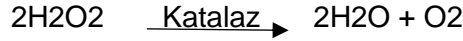
2. Mitokondrial SOD: Yapısında mangan (Mn-SOD) bulunmaktadır (210). Prokaryotik hücrelerde molekül ağırlığı 40000 dalton olan, birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom Mn bağlı olan bir dismutaz içerirler. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80000 dalton molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının primer yapıları da birbirine çok benzer. Mitokondri dismutazının bu özelliği, mitokondrinin prokaryotik orijinli olup, ökaryotik hücre içine girerek simbiyotik bir yaşam oluşturduğuna kanıt kabul edilir. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur (205).

Çinkonun stabiliteyi sağladığı ve bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir (211). SOD izoformlarının dağılımı dokudan dokuya farklılık gösterir. İskelet kasında toplam SOD aktivitesinin %15-35 kadarı mitokondride iken geriye kalan %65-85'lik kısmı sitozoldedir (212).

SOD enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik ürünlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (213).

2.3.4.1.2 Katalaz

Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört hem grubu içeren bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 248000 daltondur. Hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizler (214; 215). Demir (Fe^{+3}), enzimin aktif bölgesine bağlanması gereken bir kofaktördür (216).



Katalaz hücre içinde büyük çoğunlukta peroksizomlarda bulunur ama mitokondrilerde de az miktarda bulunmaktadır (217). Katalaz'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (165; 192; 203; 214; 218).

2.3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Selenyum içeren peroksidazlara iyi bir örnek olan glutasyon peroksidaz, GSH'ı kullanarak çeşitli hidroperoksitlerin (ROOH ve H₂O₂) redüksiyonunu katalizler ve bu sayede memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korur.



GPx'in molekül ağırlığı 80.000 Dalton'dur. Dört identik subünitesinin her birinde enzim aktivitesi için esansiyel olan bir selenosistein (Sec) kalıntısı içerir (219). GPx substratını (H₂O₂) katalazla paylaşmasına rağmen, lipid ve diğer organik peroksitlerle etkili şekilde tek başına reaksiyona girer.

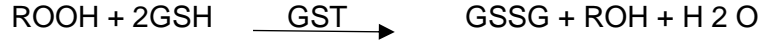
Glutasyon redoks döngüsü düşük seviyeli oksidatif stres için ana savunma kaynağıdır ama Katalaz şiddetli oksidatif strese karşı korumada daha önemlidir (220). Katalaz'ın H₂O₂'ye düşük afinitesinin GPx' den daha düşük olması yüzünden uzun bir süre, hayvan hücrelerinde ve özellikle insan eritrositlerinde H₂O₂'nin detoksifikasyonunda esas antioksidan enzimin GPx olduğu düşünülmüştür.

2.3.4.1.4. Glutasyon-S-Transferazlar

Dimer yapıda, molekül ağırlığı 50000 dalton olan, yedi farklı formda alt ünite taşıyan ve sekiz izoenzimi olan bir proteindir (221; 222). Selenyuma (Se) bağlı olmayan glutasyon peroksidaz olarak adlandırılır. Membran lipid peroksidasyonunu yalnızca fosfolipaz A₂'nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlere karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktive göstererek antioksidan etki gösterir (165; 223).

İnsanda birçok dokuda geniş dağılıma sahip, çok işlevli ve geniş spektrumlu substrat özelliği olan bir enzimdir (224).

Glutasyon S-transferaz bu özelliği ile potansiyel toksik kimyasallara maruz kalan canlı organizmada savunma görevi görür. Detoksifikasyon görevini glutasyonun -SH grubu ilgili bileşiklerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederek gerçekleştirir. Oluşan ürün suda çözünen merkaptürik asittir ve idrar ile vücuttan atılır (225).



2.3.4.1.5. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz molekül ağırlığı 120000 dalton olan 2 alt birimli bir proteindir (226). Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), Glutasyon Redüktaz'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH' a ihtiyaç vardır (165; 192; 226; 227).



2.3.4.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, superoksidi detoksifiye eden enzimdir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli devam eden normal bir reaksiyondur ve bu yolla yakıt maddelerin otooksidasyonu tamamlanarak enerji üretimi sağlanır (165; 197; 203). Ancak, süperoksid üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar.

2.3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar:

2.3.4.2.1. Askorbik Asit (C Vitamini)

Askorbat, altı karbonlu bir laktozdur ve pek çok memeli türünde karaciğerde glukozdan sentezlenir. Ancak insanda askorbik asidin sentezlenmesi için esansiyel olan glukolakton oksidaz enzimi bulunmaz ve bu sebeple sentezi gerçekleşemez (228; 229). C vitamini elektron donörü ve dolayısıyla indirgeyici ajandır. Bilinen bütün fizyolojik ve biyokimyasal hareketleri elektron donörü olmasından kaynaklanır.

Su bazlı ortamlarda geniş antioksidan kapasiteli vitamin C, lipid ortamların güçlü antioksidanı olan vitamin E'nin antioksidan etkisini andıran bir rol üstlenerek kan ve diğer vücut sıvılarının primer antioksidan savunmasını gerçekleştirir.

Askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksil radikalleri tokoferole dönüşmek için GSH ile reaksiyona girdiğinden hücredeki GSH miktarını azaltır.

Vitamin C'nin singlet oksijen süperoksit, hidroksil, hidroperoksil, lipid peroksil ve lipid alkoksil radikallerini ortamdan temizleyerek antioksidan etkisini gösterdiği bilinmektedir. Lipid moleküllerinin oksidasyonu ile oluşturduğu lipid peroksitlerinin sulu ortamlarda çözünmesinin de vitamin C'nin antioksidan etkisiyle oluştuğu ileri sürülmektedir. Bazı biyolojik sistemlerde lipozomal metil linoat misellerinin oksidasyonunu baskılayan antioksidan aktivitenin de vitamin C'den oluştuğu söylenmektedir (230).

2.3.4.2.2. Glutasyon

Redükte glutasyon (GSH); Glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Hemen hemen bütün hayvan hücrelerinde ve bazı bakterilerde bulunur (231; 232). GSH'ın hücresel antioksidan savunmada birçok rolü vardır (231).

En önemli antioksidan görevi H₂O₂ ve organik peroksitleri (lipid peroksit gibi) selenyum bağımlı enzim GPx ile katalizleyip yok ederek sırasıyla su veya alkole dönüşmesidir. Bir çift hidrojen iyonu vererek GSSH'a yükseltgenir, GSSH ise glutasyon redüktaz tarafından katalizlenir. Bu reaksiyon GPx ile oluşur, böylece GSH'ın meydana gelebilmesi için bir redoks döngüsü sağlanmış olur (233; 234). Gerekli olan NADPH dokuya göre ya heksozmonofosfat şantından ya da izositrat dehidrojenaz ve malik enzim tarafından katalizlenen reaksiyon sonucunda oluşur (232).

En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da oksijenin direkt etkisi ile hızla aktivitelerini

yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle H₂O₂' nin elimine edilmesinde GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (165; 226).

GSH hücrede en çok bulunan kısa zincirli peptid olup hücrenin protein olmayan tiyol kaynağıdır (231; 232). Hücredeki GSH konsantrasyonu milimolar oranlarda olup, organların fonksiyon ve oksidatif kapasitesine göre farklı organlarda farklı miktarlarda bulunur. Karaciğer GSH'ın vücutta en yüksek konsantrasyonda olduğu organdır. Ayrıca gözün lens kısmında da GSH konsantrasyonu yüksektir (216). Akciğer, böbrek, kalp gibi organlarda da 2-3 mM GSH bulunur. Kırmızı kan hücreleri, plazma ile karşılaştırıldığında daha fazla GSH'a sahip oldukları ve oksidatif strese karşı daha koruyucu oldukları görülür (235).

L-glutamat + L-sistein + ATP $\xrightarrow{\gamma\text{-glutamil sistein transferaz}}$ $\gamma\text{-glutamilsistein} + \text{ADP} + \text{P}_i$

$\gamma\text{-glutamilsistein} + \text{Glisin} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glutatyonsenteaz}}$ $\text{GSH} + \text{ADP} + \text{P}_i$

2.3.4.2.3.α -Tokoferol (Vitamin E)

α-Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidandır. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipidlerinin α-tokoferole karşı çok yüksek affinitesi vardır. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikale aktarırlar (236). Bunun sonucunda serbest radikal zincir reaksiyonları kırılır.

$\text{ROO}\cdot + \text{Toc-OH} \longrightarrow \text{ROOH} + \text{Toc-O}\cdot$

$\text{ROO}\cdot + \text{TocO}\cdot \longrightarrow \text{ROOH} + \text{Serbest olmayan radikal Toc-OH} = \text{TOKOFEROL}$

Oluşan serbest α-tokoferol radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikaliyle reaksiyona girer. Böylece α-tokoferol kolay reversibl oksidasyona uğramaz. Kroman halkası ve yan zincir şeklindeki serbest olmayan radikal ürününe okside olur. Bu oksidasyon ürünü ikinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden glukoronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yoluyla atılır (237).

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (238; 239).

2.3.4.2.4. Karotenoidler

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (165).

Karotenoidler; bitki, hayvan ve insanlarda oluşan yeşil ve kırmızı renkli pigmentler grubuna girerler. Fizyolojik olarak oldukça önemlidirler. Reaktif oksijen türleri ile güçlü bir etkileşime girerek, bitkisel ve hayvansal organizmalarda potansiyel serbest radikal giderici, singlet oksijen yakalayıcı ve lipid antioksidanları olarak görev yaparlar (240).

Karotenoidler; uzun, alifatik, konjuge çift bağlı sistemlerdir. Hidrokarbondan oluşan bir kısım içerirler ve bu genelde sekiz izopren birimden oluşur. Molekül formülü $C_{40}H_{56}$ 'dir (240).

Karotenoidler $OH\cdot$, $O_2\cdot$ ve peroksil radikalleri ile etkileşime geçerek mükemmel bir radikal süpürücüsü olarak iş görürler. Yapılarındaki çift bağların yerleşik olmayan eşleşmemiş elektronlara bağlanması sonucu antioksidan aktivitesi gösterirler (241).

Yüksek konsantrasyonlarında lipidleri peroksidasyon zararından korurlar. Serbest radikaller ile karotenoidler arasındaki etkileşimin açıklanmasında genel olarak üç mekanizma ileri sürülmektedir;

1. Serbest radikallere yeni bir radikal ekleme
2. Yapısından bir H^+ kopararak radikali etkisiz hale getirme
3. Yapısından bir elektron transfer ederek radikali yüksüzleştirme(242).

2.3.4.2.5. Melatonin

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan; uyku, üreme, immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur.

Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas ve arkadaşları tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir.

Melatoninin OH⁻, H₂O₂ gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir. Melatoninin antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır (243).

Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatoninin; SOD gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir. Ayrıca melatoninin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir.

Bunların dışında melatonin hem suda ve hem de lipid fazda çözünebildiğinden, organizmada çok geniş alanda antioksidan etki gösterebilmektedir.

Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebilen melatonin için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, melatoninin tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece melatonin, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir.

Hücre membranı ile temas ettiğinde, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan melatonin, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur.

Melatonin varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan radikallerin üretimi de azalmaktadır.

Çekirdeğe kadar ulaşabilme özelliği, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, melatonine bir üstünlük sağlamaktadır.

En önemlisi, diğer antioksidanların aksine, çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve 5 yıl gibi uzun süre kullanımda bile, melatoninin toksik bir etki göstermemesidir (243).

2.3.4.2.6. Polifenoller

Fenoller, aromatik halkaya bağlı OH grubu içeren etkili antioksidanlardır, çünkü bu bileşiklerden oluşan radikaller, rezonans kararlılığına sahiptir, bu nedenle diğer radikallere göre etkin olmayan radikallerdir.

2.3.4.2.7. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmını akut faz proteini olan seruloplazminden kaynaklanır. Seruloplazmin SOD'a benzer bir mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.

2.3.4.2.8. Ürat

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır.

2.3.4.2.9. Transferrin ve Laktoferrin

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar.

2.3.4.2.10. Albümin

Albümin kuvvetli şekilde bakır ve zayıf olarak da demiri bağlar. Yüksek konsantrasyonlarda (40-60 mg/ml) bulunur. Albumine bağlı bakır, Fenton reaksiyonuna katılabilir fakat albumin yüzeyinde oluşacak olan OH radikali albumin tarafından temizlenir ve radikalın serbest solüsyona kaçmasına izin vermez. Bu biyolojik olarak önemli olmayan, albumine ait bir reaksiyon örneğidir. Aynı zamanda myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler.

2.3.4.2.11. Bilirübin

Hem katabolizması ile meydana gelen ve albumine bağlı olarak taşınan bir safra pigmentidir. Bilirübin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.

3. MATERYAL METOD

PKOS'u olan çalışmaya dâhil edilen tüm kadınların, yapılan ultrasonografide overleri polikistik görünümde izlendi [≥ 12 küçük kistik (2 ila 9 mm çapında) ve/veya artmış over hacmi (>10 ml)]. Kontrol grubuna dâhil edilenlere yapılan ultrasonografide overlerde patolojik bulgu görülmedi.

Ek endokrinolojik problemleri olan veya son 6 ay içinde hormon tedavisi kullanan hasta ve kontroller çalışmaya dahil edilmedi. PKOS tanısı konulurken Rotterdam Kriterleri esas alındı.

45 günün üzerindeki menstrual sikluslar oligomenore, ardışık 3 siklusta menstruasyon olmaması ise amenore olarak kabul edildi.

Hirsutizmin şiddeti vücudun 9 bölgesinin kıl dağılımını inceleyen Modifiye Ferriman-Gallwey skorlama (FGS) sistemi ile değerlendirildi. FGS skoru 8'in üzerinde olan kadınlar klinik olarak hirsutizm kabul edildi.

Tüm hastalara genel fizik muayene ve pelvik muayene yapıldı. Her hastanın jinekolojik öyküsü, demografik özellikleri kaydedildi.

Hasta ve kontrol grubuna dahil edilen kişilerden, menstrüel siklusun 2. veya 3. gününde; 12 saatlik açlık sonrasında antekübital venden 10 cc venöz kan 2 biyokimya tüpüne alınmış, örnekler yaklaşık 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 10 dakika boyunca 3500 devirde santrifüj edilmiş ve elde edilen serum örnekleri leptin düzeyi için analiz yapılana kadar -80 °C' de saklanmıştır.

Hastaların yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), bel çevresi ölçümleri, menstrual düzenleri, Ferriman-Gallwey skorları, açlık glukoz ve insülin değerleri, serum TSH, PRL, FSH, LH, E2, T.Testosteron, SHBG, DHEA-S, AMH düzeyleri kayıt edildi.

Hastaların boy uzunlukları ve vücut ağırlıkları profesyonel olarak kalibre edilmiş cihazlar kullanılarak ölçüldü.

$VKİ = \text{ağırlık (kg)}/\text{boy uzunluğu(m)}^2$ formülü kullanılarak hesaplandı.

Bel çevresi (cm) onuncu kaburga ile spina iliaca anterior superiorun birleşiminin orta noktasının çevresinin ölçülmesi ile bulundu.

İnsülin rezistansı hemostatik model formülü (HOMA) kullanılarak hesaplandı (açlık serum insülini (mU/L) x açlık plazma glukozu (mg/dL)/405). Bu değerin 2,5'in üzerinde olması insülin rezistansı olarak tanımlandı.

Biyokimyasal olarak hiperandrojenemi Free Androjen Index (FAI) kullanılarak hesaplandı ve tanımlandı. (FAI = 100 x 3,47 x Total Testosteron (ug/L) / SHBG (nmol/L) formülü ile hesaplandı.)

Analiz öncesi toplanan bütün örnekler ve kitler oda sıcaklığına getirilmiştir. Örnekler dilüsyon solüsyonu ile dilüe edilmiştir.

Örnekler Human Glutasyon (EA0142Hu), Human Netrin-1 (E1277Hu), Human Nitric Oxide (NO) (E1510Hu) ve Human Malondialdehyde (MDA) (E1371Hu) testleri BTLAB (Shanghai Korain Biotech Co. Ltd, China) ticari kitleri kullanılarak çalışılmıştır.

Çalışmada kullanılan kitlerin standart ve kimyasalları hazırlandıktan sonra mikropalakada bulunan kuyucuklara standartlar ve örnekler pipetlenmiştir. Ardından prospektüste anlatılan adımlar izlenerek örneklerin testlerin konsantrasyonlarına göre renklendirilmesi sağlanmıştır. Renk oluşumu gözlendikten sonra 450 nanometrede (nm) Biotek Elx800 Mikropalaka okuyucu (BioTek Instruments Inc. USA) kullanılarak kuyucukların absorbans değerleri okunmuştur. Gen5 data analiz programı ile serum absorbans değerleri kullanılarak dilüsyon faktörü de gözönüne alınarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Ölçümlerde kullanılan birimler;

	MDA	Netrin-1	Glutasyon	NO
Birim	mol/ml	pg/ml	ng/ml	umol/L

Etik Kurul Onayı

Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışmayla ilgili 21/10/2020 tarihli ve 60116787-020/64228 numaralı etik kurulu onayı alındı. Hastalar çalışma hakkında ayrıntılı bilgilendirilerek, aydınlatılmış yazılı onamları alındı.

İstatistiksel Yöntem

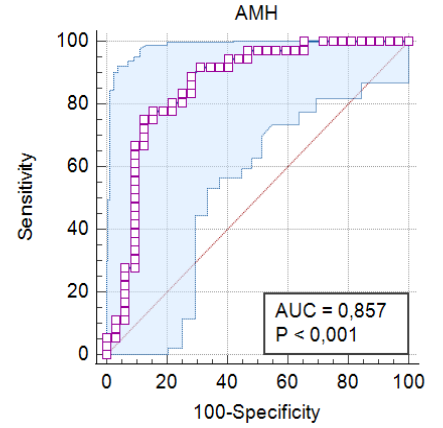
Verilerin değerlendirilmesi için IBM SPSS Statistics Version 22 kullanılmıştır. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman ya da Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelendi. Tüm istatistiklerde p anlamlılık değeri 0,05 olarak alındı.

AMH Cut-Off Belirlenmesi;

MedCalc Programı kullanılmış olup; AMH için Cut-off değeri >4.23 olarak alınmıştır.

ROC curve

Variable	AMH
Classification variable	GRUP
Sample size	68
Positive group ^a	36 (52,94%)
Negative group ^b	32 (47,06%)
^a	
^b GRUP = 0	
Disease prevalence (%)	unknown



Area under the ROC curve (AUC)

Area under the ROC curve (AUC)	0,857
Standard Error ^a	0,0497
95% Confidence interval ^b	0,751 to 0,930
z statistic	7,190
Significance level P (Area=0.5)	<0,0001

^a DeLong et al. 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,6250
Associated criterion	$>4,23$
Sensitivity	75,00
Specificity	87,50

4. BULGULAR

Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekoloji Polikliniği'nde yapılan bu klinik çalışmaya PKOS tanısı almış 36 hasta ile kontrol grubunda yer alan 32 sağlıklı olgu dâhil edildi. Çalışmaya alınan toplam olgu sayısı 68 idi.

Tablo 6-Grupların olgulara göre dağılımı

Gruplar	Olgular	Yüzde
PKOS	36	%52.94
Kontrol	32	%47.06
TOPLAM	68	%100

Tablo 7- PKOS ve Kontrol Grubu Karşılaştırması

PARAMETRELER	PKOS (n=36)	KONTROL (n=32)	p
Yaş	23.11 ± 0.66	26.53 ± 0.82	0.002*
Kilo (kg)	65.59 ± 2.28	59.25 ± 1.57	0.026*
VKİ	25.15 ± 0.88	21.21 ± 0.48	0.00*
Bel Çevresi (cm)	84.91 ± 2.36	75.21 ± 1.74	0.002*
Ferriman Gallwey	12.19 ± 1.66	2.25 ± 0.53	0.001*
NETRİN-1 (pg/ml)	2420.76 ± 282.26	2739.50 ± 258.69	0.408
Glukoz (mg/dL)	89.55 ± 1.16	87.22 ± 0.98	0.132
İnsülin (mU/L)	13.83 ± 1.34	8.61 ± 0.52	0.001*
FSH (U/L)	5.53 ± 0.21	6.24 ± 0.26	0.043*
LH (U/L)	10.83 ± 0.89	7.47 ± 0.76	0.006*
Estradiol (ng/L)	43.14 ± 3.07	48.45 ± 7.79	0.530
AMH (ng/mL)	7.03 ± 0.63	3.32 ± 0.51	0.000*
TSH (mU/L)	2.14 ± 0.13	1.86 ± 0.17	0.209
Prolaktin (ug/L)	14.84 ± 1.00	17.46 ± 2.03	0.255
T.Testosteron (ug/L)	0.42 ± 0.04	0.26 ± 0.03	0.003*
SHBG (nmol/L)	66.84 ± 13.72	77.82 ± 11.04	0.535
DHEA-S (ug/dL)	300,61 ± 19.90	249.14 ± 24.03	0.104
FAI	4.57 ± 0.69	1.86 ± 0.36	0.001*
MDA (mol/ml)	31.77 ± 4.29	40.91 ± 4.43	0.144
Glutasyon (ng/ml)	15.15 ± 1.05	13.13 ± 0.91	0.154
NO (umol/L)	290.91 ± 36.37	297.81 ± 32.29	0.888
HOMA-IR	3.13 ± 0.33	1.87 ± 0.12	0.001*

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı

Sonuç: Kontrol grubu ve PKOS grubu değişkenlere göre karşılaştırıldığında yaş, kilo, VKİ, bel çevresi, Modifiye Ferriman Gallwey hirsutizm skorları, insülin düzeyi, HOMA-IR, FSH düzeyi, LH düzeyi, total testosteron düzeyi, FAI, AMH düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. Kontrol grubu ve PKOS grubu değişkenlere göre karşılaştırıldığında Glukoz düzeyi, Estradiol düzeyi, TSH düzeyi, PRL düzeyi, DHEA-S düzeyi, SHBG düzeyi, Netrin-1, MDA, Glutasyon, NO açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Tablo 8-Parametreler arasında korelasyon sonuçlarına göre

Parametreler	İnsülin	HOMAIR	FSH	LH	Prolaktin	T. Testosteron	TSH	SHBG	Estradiol	AMH	DHEA-S	FAI	MDA	GLUTATYON	NO
Yaş			+	-		!				!	!	-			
Kilo	++	++						-				+			
BMI	++	++						!				++			
Bel	++	++										+			
Ferriman Gallwey			--			++									
Netrin-1												-	++		++
Glukoz	++	++													
İnsülin		++					+								
FSH				+	+						--				
LH			+		++				+	++	+	+			
Estradiol				+											
AMH				++		++						++			
TSH	+	+													
Prolaktin			+												
T. Testosteron				++				-		++	++	++			
SHBG						-					--	--			
DHEA-S			--	+		++		--				++			
FAI				+		++		--		++	++				
MDA															++
Glutasyon															
NO													++		
HOMA-IR	+						+								

+: pozitif korelasyon

-: negatif korelasyon

- ❖ Parametrelerin korelasyon sonuçlarına göre yorumlanması;
 - MDA ile NO pozitif korelasyon göstermektedir.
 - Glutasyon hiçbir parametre ile korelasyon göstermemiştir.
 - Yaş ile FSH pozitif korelasyon göstermekte iken LH, Total Testosteron, AMH, DHEA-S ve FAİ negatif korelasyon göstermektedir.
 - Kilo ile insülin, HOMA-IR ve FAİ pozitif korelasyon göstermekte iken, SHBG ile ters korelasyon göstermektedir.
 - VKİ ile insülin, HOMA-IR ve FAİ pozitif korelasyon göstermekte iken, SHBG ile ters korelasyon göstermektedir.
 - Bel çevresi ile insülin, HOMA-IR ve FAİ pozitif korelasyon göstermektedir.
 - Ferriman- Gallwey skora sistemi ile total testosteron pozitif korelasyon göstermekte iken FSH ile negatif korelasyon göstermektedir.
 - Glukoz ile insülin ve HOMA-IR pozitif korelasyon göstermektedir.
 - İnsülin ile HOMA-IR ve TSH pozitif korelasyon göstermektedir.
 - HOMA-IR ile insülin ve TSH pozitif korelasyon göstermektedir.
 - FSH ile LH ve PRL pozitif korelasyon göstermekte iken DHEA-S ile negatif korelasyon göstermektedir.
 - LH ile FSH, PRL, estradiol, AMH, DHEA-S ve FAİ pozitif korelasyon göstermektedir.
 - Estradiol ile LH pozitif korelasyon göstermektedir.
 - AMH ile LH, total testosteron ve FAİ pozitif korelasyon göstermektedir.
 - TSH ile insülin ve HOMA-IR pozitif korelasyon göstermektedir.
 - PRL ile FSH pozitif korelasyon göstermektedir.
 - Total testosteron ile LH, AMH, DHEA-S ve FAİ pozitif korelasyon göstermekte iken SHBG negatif korelasyon göstermektedir.
 - SHBG ile total testosteron, DHEA-S ve FAİ negatif korelasyon göstermektedir.
 - DHEA-S ile LH, total testosteron ve FAİ pozitif korelasyon göstermekte iken FSH ve SHBG negatif korelasyon göstermektedir.
 - FAİ ile LH, total testosteron, AMH ve DHEA-S pozitif korelasyon göstermekte iken SHBG negatif korelasyon göstermektedir.

Tablo 9-Netrin-1 Konsantrasyonuna göre Bağımlı Değişkenler

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Constant)	404,904	87,279		4,639	,000
MDAKONSANTRASYON	30,385	4,905	,492	6,194	,000*
NOKONSANTRASYON	3,867	,624	,490	6,199	,000*
FAI	-20,522	11,478	-,047	-1,788	,079

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı

Sonuç: Netrin-1 ile MDA ve NO pozitif korelasyon göstermekte iken FAİ ile negatif korelasyon göstermektedir.

❖ **İnsülin Direncine Göre Değerlendirme;**

İnsülin direnci HOMA-IR formülü (açlık serum insülini (mU/L) x açlık plazma glukozu (mg/dL)/405) kullanılarak hesaplandı.

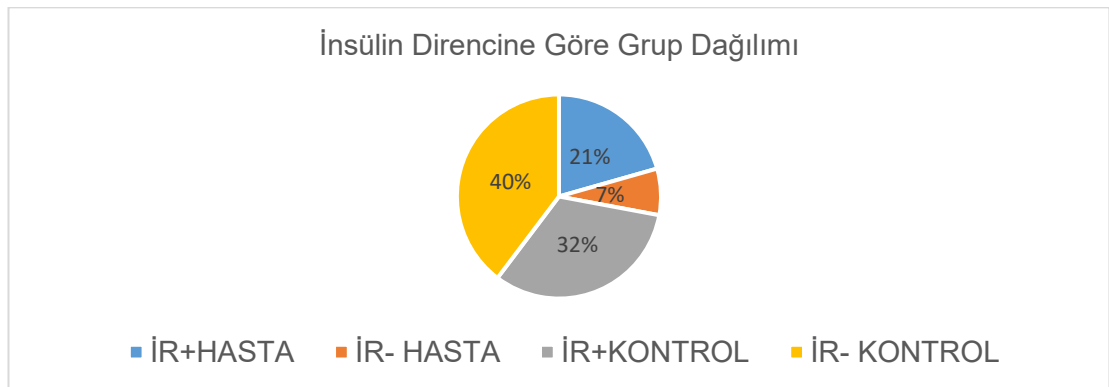
HOMA-IR: ≥ 2.5 olan hastalar insülin direnci + kabul edildi.

HOMA-IR: <2.5 olanlar insülin direnci yok kabul edildi.

Hasta ve kontrol grubu insülin direnci olan ve olmayanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arasında parametrelere göre farklılık olup olmadığı araştırıldı.

Tablo 10-İnsülin Direncine Göre Grup Dağılımı

Grup	İnsülin direnci +	İnsülin direnci -
Hasta	1.Grup (n = 14)	3.Grup (n=22)
Kontrol	2.Grup (n =5)	4.Grup (n= 27)



Tablo 11- Homogeneous Subsets

PARAMETRE	İR+ PKOS (1) (n=14)	İR- PKOS (2) (n=22)	İR+KONTROL (3) (n=5)	İR- KONTROL (4) (n=27)
YAŞ	23,85	22.63 ^{e*}	27,60	26,33
KİLO	69,10 ^{c*}	63,36	66,80	57,85
VKİ	26,63 ^{c*}	24,21	23,34	20,81
BEL	88,14 ^{c*}	82,86	82,80	73,81
FER. GALLWEY	12,81 ^{c*}	11,21 ^{e*}	5,00	1,74
NETRİN-1	2525,81	2353,91	2614,82	2762,59
GLUKOZ	94,42 ^{a,c*}	94,00	86,45 ^{f*}	85,97
İNSÜLİN	21,86 ^{a,b,c*}	8,73	13,54 ^{f*}	7,69
FSH	5,67	5,44	5,93	6,29
LH	10,61	10,96	6,63	7,62
ESTRADIÖL	40,65	44,73	35,04	50,93
AMH	6,25	7,52 ^{e*}	3,79	3,23
TSH	2,55	1,88	1,46	1,93
PROLAKTİN	13,99	15,38	17,48	17,45
T. TESTOSTERON	,40	,43	,25	,26
SHBG	50,10	77,49	45,46	83,82
DHEA-S	313,32	292,52	240,40	250,76
FAI	4,41	4,68 ^{e*}	2,27	1,78
MDA	32,78	31,13	42,44	40,62
GLUTATYON	17,31	13,77	14,15	12,95
NO	292,49	289,90	308,70	295,79
HOMA-İR	5,12 ^{a,b,c*}	1,86	3,14 ^{f*}	1,63

a: İR + PKOS ile İR – PKOS grubu karşılaştırması

b: İR + PKOS ile İR + Kontrol grubu karşılaştırması

c: İR + PKOS ile İR – Kontrol grubu karşılaştırması

d: İR- PKOS ile İR + Kontrol grubu karşılaştırması

e: İR – PKOS ile İR – Kontrol grubu karşılaştırması

f: İR + Kontrol ile İR – Kontrol grubu karşılaştırması

*:P< 0.05 istatistiksel olarak anlamlı.

Sonuç: Gruplar karşılaştırıldığında tabloda gösterilen parametreler arasında anlamlı farklılık bulunmuş ancak; Netrin-1 konsantrasyonu, MDA konsantrasyonu, Glutasyon konsantrasyonu, NO konsantrasyonu, FSH, LH, PRL, T.Testosteron, TSH, SHBG, DHEA-S ve Estradiol düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Reproduktif çağda %10-13'lere kadar yüksek oranlarda görülen Polikistik Over Sendromu (PKOS) önemli bir toplum sağlık sorunudur.

PKOS patofizyolojisinin temelinde insülin rezistansının önemi bilinmektedir. Birçok hastada karbonhidrat metabolizma bozukluğunun mevcudiyeti ve overlerin insülinin tetiklediği androjen sentezine aşırı duyarlı olması bu bulguları desteklemektedir. Ancak insülin rezistansının tam olarak hangi yollar ile ovulatuvar disfonksiyon ve hiperandrojenemiye neden olduğu kesin olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Ayrıca oksidatif stresin insülin direnci ve PKOS gelişimine katkısı bilinmektedir. Kısa ve uzun dönem etkileri olan PKOS'un patofizyolojisinin aydınlatılması için çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Literatürde Netrin-1 ve PKOS ilişkisi hakkında yayın bulunmayıp çalışmamızı hazırlarken PKOS ve insülin direnci arasındaki ilişkiden yola çıkarak daha önceden insülin direnci, diyabet ve vasküler endotelial hasar konularında yapılan Netrin-1 çalışmaları baz alınarak, PKOS tanısında ve tedavisinde netrin-1'in yeni bir biyobelirteç olup olmayacağını belirlemek amaçlanmıştır.

Başka bir çalışmada serum netrin-1, normal kontrollere kıyasla bozulmuş açlık glukozu veya tip 2 diyabetli bireylerde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu muhtemelen bozulmuş açlık glukozu veya tip 2 diyabete karşı bir telafi edici yanıtı atfedilebilir (244). VKİ, serum netrin-1 seviyeleri ile anlamlı olarak ilişkili bulunmamıştır (245). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde netrin-1 ile VKİ arasında ilişki bulunmamıştır. Serum netrin-1 konsantrasyonları, bozulmuş açlık glukozu veya tip 2 diyabetli bireylerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş ve serum netrin-1 seviyesi, açlık glukozu, HbA_{1c}, HOMA-IR, AST ve ALT ile anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir (244).

Daha önce ortalama HbA_{1c} düzeyi diyabetik olmayan hastalara göre %8,1 olan diyabetli hastalarda serum netrin-1 düzeylerinin yükseldiği, plazma Netrin-1 seviyesi ve HbA_{1c} arasında güçlü bir pozitif ilişki olduğu ve EGFR arasında önemli bir negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir (246). Biz çalışmamızda HbA_{1c} ve EGFR çalışmamış bulunmaktayız.

Netrin-1'in kan şekeri seviyeleri ve IR ile negatif ilişkili olduğu, ayrıca Netrin-1'in Tip 2 DM'de pankreatik adacık hücre kütlelerini ve yoğunluğunu arttırdığı saptanmış; buradan yola çıkarak netrin-1'in bu hastalığın ilerlemesini geciktirmek için β -hücresinde muhtemelen koruyucu bir role sahip olduğunu iddia edilmiştir (247).

Hastalara ekzojen netrin-1 verilmesinin, insülin duyarlılığını artırabileceği ve insülin direncini iyileştirebileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda netrin-1'in, Tip2 DM'li veya diyabeti olmayan ancak insülin direnci olan hastaların tedavisinde faydalı olabileceği çıkarımı yapılmıştır.

Netrin-1'in makrofaj spesifik delesyonunun, yüksek yağlı diyet ile beslenmiş farelerde visseral yağlı dokuda makrofaj birikimini %35 oranında azaltabileceği, sistemik ve lokal inflamasyon belirteçlerini azaltabileceği, obezitede adipoz doku homeostazını ve metabolik disfonksiyonu iyileştirebileceği düşünülmektedir (248).

Netrin-1'in kardiyovasküler hastalıklardaki işlevini araştırmak için önemli klinik öncesi araştırmaların yapıldığını belirtmekte fayda vardır. Netrin-1'in kardiyoprotektif ajan olarak hareket ederek ateroskleroz, anjiyogenez ve iskemi-reperfüzyon hasarında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Netrin-1'in ekzojen takviyesi, NO seviyesindeki bir artış yoluyla iskemi/reperfüzyon hasarına karşı kardiyoprotektif bir etki göstermiştir. Aynı zamanda, diyabetik bir hayvan modelinde miyokard enfarktüsünde bir gelişme sergilemiştir ve NADPH oksidaz etkisinin NO'ya bağlı zayıflaması ve NOS'un oluşturduğu iskemi/reperfüzyon'unun neden olduğu kardiyak mitokondriyal disfonksiyonu ortadan kaldırmıştır (249; 250).

Netrin-1'in hem endotel hücreleri üzerinde hem de monosit adezyonunu ve göçünü inhibe ederek bir anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu ayrıca gösterilmiştir (251; 252; 245).

Son zamanlarda, bazı çalışmalar netrin-1'in sepsis, akut böbrek hasarı, akut akciğer hasarı ve periton iltihabında infiltrasyon ve inflamasyonu baskıladığını öne sürmüştür (253). Diğer çalışmalar, netrin-1'in nükleer faktör kappa B aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu düzenleyebileceğini (254) ve M2-benzeri makrofaj farklılaşmasını destekleyebileceğini göstermektedir (247).

Enflamasyonun diyabet gelişimine önemli katkıda bulunduğu bilinmektedir (255). Artmış oksidatif stres ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlekin-6 (IL-6) dâhil olmak üzere çeşitli proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler, insülin üzerindeki anti-inflamatuvar etkilere müdahale ederek insülin direnci, obezite ve tip 2 diyabet ile ilişkilendirilmiştir (255; 256)

Hiperglisemiye maruz bırakılan transgenik fareler ve kültürlenmiş sığır aort endotel hücreleriyle yapılan çalışmalar, netrin-1 seviyelerinin azaldığını göstermiştir. Bu etkiler, azalan NO üretimi, artan reaktif oksijen türleri (ROS), artan kaspaz-3 aktivitesi ve ekspresyonu ile düşük fosforile ERK1/2 ve eNOS seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Kültürlenmiş sığır aort endotel hücrelerinin netrin-1 ile tedavisi, hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres ve apoptoz yükselmesini önlemiş; NO seviyelerini korumuş, ERK1/2 aktivitesini restore etmiş ve p-eNOS seviyelerini yükseltmiştir. Dolayısıyla hiperglisemi ve diyabette netrin-1 etkilerinin artırılmasının, endotel hücre fonksiyon bozukluğunun iyileştirilmesi için terapötik bir aracı temsil edebileceği düşünülmüştür (250).

Diyabetik farelerde vasküler netrin-1 seviyelerinin azaltılması, bozulmuş endotel fonksiyonda rol oynuyor gibi görünmektedir, çünkü farelerde netrin-1'in aşırı ekspresyonu, diyabetin neden olduğu endotel bozukluğu büyük ölçüde önlemektedir. Netrin-1'in vasküler endotelyumdaki sinyal mekanizması iyi bilinmemekle birlikte DCC/ERK1/2 yolunun netrin-1 tarafından aktivasyonunun endotel hücrelerinde NO üretiminin yükselmesine yol açtığı gösterilmiştir (250) .

Endotel disfonksiyonu diyabetin kritik bir özelliğidir ve bozulmuş vazorelaksasyonu, oksidatif stresin yükselmesiyle NOS ayrışmasını, azalmış vasküler NO üretimini, vasküler kalınlaşmayı ve endotel apoptozu içerir. eNOS aktivitesi ve NO biyoyararlanımı, transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası ve NO'nun ROS aracılı azaltılması dâhil olmak üzere çeşitli mekanizmalar tarafından düzenlenir (257). Diyabetik farelerin aort endotel hücrelerinde hiperglisemi ile indüklenen süperoksit seviyeleri, netrin-1 tedavisi ile büyük ölçüde hafifletilmiştir (250).

Plazma netrin-1 düzeylerinin diyabetli hastalarda belirgin şekilde azaldığının gösterildiğini ve bu etkinin insülin direnci ve glukoz homeostazı ile negatif ilişkili olduğunu belirtmek önemlidir (258) .

Hipergliseminin, sitokinler, kemokinler, iNOS ve COX-2 dâhil olmak üzere çok çeşitli genlerin aktivasyonunda rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan NFκB'yi aktive ettiği bilinmektedir. Netrin-1'in NFκB aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla inflamasyonu azalttığını, diyabetin neden olduğu COX-2 ekspresyonunu azalttığı ve p16INK4A ve kaspaz-3 aktivitesini ve ekspresyonunu azaltarak apoptotik süreçleri baskıladığı gösterilmiştir (250).

Oksidatif stres ve düşük dereceli inflamasyon ile hiperandrojenizm ve insülin direnci arasındaki etkileşim PKOS'ta kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (259; 260). Son kanıtlar gösteriyor ki, PKOS'ta artan ROS üretiminin nedeni, mitokondriyal elektronun taşıma zinciri bozulmasıyla ilgili olabilir (261; 262).

Glutasyon-s-transferaz süper ailesi, ksenobiyotikleri ve serbest radikalleri detoksifiye etmenin yanı sıra, farklı endojen substratların konjugasyonu, steroidler ve prostaglandinler dâhil katalizlemede de yer alır (263).

Görüldüğü üzere biyolojik süreçte hücre göçü, adhezyon, farklılaşma, hayatta kalma, anjiyogenezis, endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezisi, sitoskeletin reorganizasyonu, tümör büyümesi ve inflamasyonda regülatör olarak görev yapan Netrin-1'in insülin direnci veya diyabeti olan olgularda artıyor mu azalıyor mu olduğuna dair görüş birliği bulunmamaktadır.

6. SONUÇ

Çalışmamızın sonuçlarına göre; PKOS ve kontrol grubu arasında yaş, kilo, VKİ, bel çevresi, HOMA-IR, FAİ, Ferriman Gallwey Skoru, insülin düzeyi, FSH, LH, AMH ve total testosteron düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmuştur. Ancak çalışmamızın esas amacını oluşturan Netrin-1, MDA, Glutasyon ve NO seviyeleri açısından PKOS tanılı hastalarda ve kontrol grubunda anlamlı fark bulunmamıştır. İnsülin direnci olan ve olmayanlar şeklinde bakıldığında da 4 grup arasında (insülin direnci olan/olmayan PKOS, insülin direnci olan/olmayan kontrol) Netrin-1, MDA, Glutasyon ve NO seviyeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak Netrin-1 ile MDA ve NO pozitif korelasyon göstermekte iken FAİ ile negatif korelasyon göstermektedir. Buradan yola çıkarak çalışmamızda hasta (23.11 ± 0.66) ve kontrol (26.53 ± 0.82) grubunu genç kadınlar oluşturduğundan dolayı bu kadınların uzun dönem oksidatif strese maruz kalmadıkları ve o sebeple bu parametrelerin etkilenmemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Yukarıda bahsi geçen limitasyonların azaltılması için hastalığa daha uzun süreli maruz kalmış ve daha geniş hasta popülasyonuna sahip yeni çalışmalar önerilir.

KAYNAKÇA

1. Şefik Görkey, Türkan Saylan. *Hekim Olmak 15'inde Başlayan Ve Bir Ömür Süren Tıbbiye Aşkı*. 2007.
2. Bozdog G, Mumusoglu S, Zengin D, Karabulut E, Yildiz BO. *The Prevalence And Phenotypic Features Of Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review And Meta-Analysis*. *Hum Reprod* 2016
3. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halverson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. *İkinci Basım: Williams Jinekoloji: Polikistik Over Sendromu Ve Hiperandrojenizm*, 2015
4. Stein IF. *Amenorrhea Associated With Bilateral Polycystic Ovaries*. *Am J Obstet Gynecol*. 1935
5. Yildiz BO, Azziz R, Androgen E, Society P. *Ovarian And Adipose Tissue Dysfunction İn Polycystic Ovary Syndrome: Report Of The 4th Special Scientific Meeting Of The Androgen Excess And PCOS Society*. *Fertil Steril*. 2010
6. *Inflammation And Early Cardiovascular Risk İn The Polycystic Ovary Syndrome*. *Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism* 2004
7. Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JS, Legro RS, Et Al. *Polycystic Ovary Syndrome*. *Nat Rev Dis Primers*. 2016
8. Cassar S, Misso ML, Hopkins WG, Shaw CS, Teede HJ, Stepto NK. *Insulin Resistance İn Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review And Meta-Analysis Of Euglycaemic-Hyperinsulinaemic Clamp Studies*. *Human Reproduction (Oxford, England)*. 2016
9. Venkatesan AM, Dunaif A, Corbould A. *Insulin Resistance İn Polycystic Ovary Syndrome: Progress And Paradoxes*. *Recent Prog Horm Res*. 2001
10. Barnes R, Rosenfield RL. *The Polycystic Ovary Syndrome: Pathogenesis And Treatment*. *Ann Intern Med*. 1989.
11. Gonzalez F. *Inflammation İn Polycystic Ovary Syndrome: Underpinning Of Insulin Resistance And Ovarian Dysfunction*. *Steroids*. 2012

12. Duleba AJ, Dokras A. *Is PCOS An Inflammatory Process?* *Fertil Steril.* 2012
13. Speroff 2007.
14. Diamanti-Kandarakis E, Kandarakis H, Legro RS. *The Role Of Genes And Environment In The Etiology Of PCOS.* *Endocrine.* 2006
15. Yildiz BO. *Reproductive Endocrinology: Contraceptives, Exercise And Diet -Are All Three Needed In PCOS?* *Nature Reviews Endocrinology.* 2016.
16. Yilmaz B, Vellanki P, Ata B, Yildiz BO. *Metabolic Syndrome, Hypertension, And Hyperlipidemia In Mothers, Fathers, Sisters, And Brothers Of Women With Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review And Meta-Analysis.* *Fertil Steril.* 2018
17. Yilmaz B, Vellanki P, Ata B, Yildiz BO. *Diabetes Mellitus And Insulin Resistance In Mothers, Fathers, Sisters, And Brothers Of Women With Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review And Meta-Analysis.* *Fertil Steril.* 2018
18. Yildiz BO, Yarali H, Oguz H, Bayraktar M. *Glucose Intolerance, Insulin Resistance, And Hyperandrogenemia In First Degree Relatives Of Women With Polycystic Ovary Syndrome.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2003
19. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. *Profound Peripheral Insulin Resistance, Independent Of Obesity, In Polycystic Ovary Syndrome.* *Diabetes.* 1989
20. Azziz R, Woods Ks, Reyna K, Key Tj, Knochenhauer Es, Yildiz Bo: *The Prevalence And Features Of The Polycystic Ovary Syndrome In An Unselected Population.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2004
21. Azziz R, Dumesic Da, Goodarzi Mo. *Polycystic Ovary Syndrome: An Ancient Disorder?* *Fertility And Sterility.* 2011
22. *International Evidence-Based Guideline For The Assessment And Management Of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), Monash University, Melbourne Australia 2018.* [Monash.Edu/Medicine/Sphpm/Mchri/Pcos/Guideline.](http://Monash.Edu/Medicine/Sphpm/Mchri/Pcos/Guideline) 2018
23. Szydlarska, Machaj, Jakimiuk, & Medicine, 2017.
24. Achard C, J. T. *Le Virilisme Pilaire Et Son Association À L'insuffisance Glycolytique (Diabète Des Femme Á Barbe).* *Bull Acad Natl Med.* 1921

25. Speroff L, Fritz M. A: *Clinical Gyneacologic Endocrinology And Infertility*, Chapter 12. *Anovulation And The Polycystic Ovary*. 2011.
26. Koivunen RM, Morin-Papunen LC, Ruukonen A, Tapanainen JS, Martikainenhk. *Endocrine And Metabolic Changes In Women With Polycytic Ovaries*. *Hum Reprod*.2001
27. Mcarthur J W, Ingersoll FM, Worcester J. *The Urinary Excretion Of Interstitialcelland Follicle Stimulating Hormone Activity By Women With Diseases Of Thereproductive System*. *J Clin Endocrinol Metab* 1958
28. Carmina E, Lobo RA. *PCOS: Arguably The Most Common Endocrinopathy Isassociated With Significant Morbidity In Women*. *J. Clin Endocrinol Metabol*. 1999
29. *Revised 2003 Consensus On Diagnostic Criteria And Long-Term Health Risks Related To Polycystic Ovary Syndrome*. *Fertil Steril*. 2004
30. Orio F, Azziz R. *Report On The Third Annual Meeting Of The Androgen Excess Society, San Diego, California, June 3, 2005*. *Fertil Steril*. 2006
31. Goodarzi MO, Azziz R. *Diagnosis, Epidemiology, And Genetics Of The Polycystic Ovary Syndrome*. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006
32. Health NIO. *Evidence-Based Methodology Workshop On Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)* 2012
33. Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. *Criteria, Prevalence, And Phenotypes Of Polycystic Ovary Syndrome*. *Fertility And Sterility*. 2016
34. Yildiz BO, Bozdog G, Yapici Z, Esinler I, Yarali H. *Prevalence, Phenotype And Cardiometabolic Risk Of Polycystic Ovary Syndrome Under Different Diagnostic Criteria*. *Human Reproduction (Oxford, England)*. 2012
35. Franks S. *Polycystic Ovary Syndrome A Changing Perspective*. *Clinicalendocrinology*.1989

36. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway S.G. *The Pathophysiology Of Polycystic Ovary Syndrome. Clin Endocrinol* 2004
37. Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. *Characterization of The Inappropriate Gonadotropin Secretion In Polycystic Ovary Syndrome. J Clin Invest* 1976
38. Yen SS. *The Polycystic Ovary Syndrome. Clin. Endocrinol (Oxf)* 1980
39. Kaiser UB, Sabbagh E, Katzenellenbogen RA, Et Al. *A Mechanism For The differential Regulation Of Gonadotropin Subunit Gene Expression By gonadotropin releasing hormone. Proc. Natl. Acad Sci. USA* 1995
40. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. *Hypersecretion Of androstenedione By Isolated Thecal Cells From Polycystic Ovaries. J Clin Endocrinolmetab* 1994
41. Carmina, E., Et Al., *Does Ethnicity Influence The Prevalence Of Adrenal Hyperandrogenism And Insulin Resistance In Polycystic Ovary Syndrome? Am J Obstet Gynecol*, 1992.
42. Barnes, R.B., Et Al., *Pituitary-Ovarian Responses To Nafarelin Testing In The Polycystic Ovary Syndrome. N Engl J Med*, 1989
43. Ehrmann, D.A., Et Al., *Detection Of Functional Ovarian Hyperandrogenism In Women With Androgen Excess. N Engl J Med*, 1992
44. Nahum R, Thong KJ, Hillier SG. *Metabolic Regulation Of Androgen Production By human Thecal Cells In Vitro. Hum Reprod* 1995
45. Moran C, Knochenhauer E, Boots LR, Azziz R. *Adrenal Androgen Excess In hyperandrogenism: Relation To Age And Body Mass. Fertil Steril* 1999
46. Taylor AE. *Polycystic Ovary Syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998
47. Dunaif, A., *Insulin Resistance And The Polycystic Ovary Syndrome: Mechanism And Implications For Pathogenesis. Endocr Rev*, 1997

48. Deugarte, C.M., A.A. Bartolucci, And R. Azziz, *Prevalence Of Insulin Resistance In The Polycystic Ovary Syndrome Using The Homeostasis Model Assessment. Fertil Steril, 2005*
49. Nestler J.E., Jakubowicz D.J.: *Lean Women With Polycystic Ovary Syndrome Respond To Insulin Reduction With Decreases In Ovarian P450c17 Alpha Activity And Serum Androgens. J Clin Endocrinol Metab 1997*
50. Atiomo WU, Bates SA, Condon JE, Shaw S, West JH, Prentice AG. *The Plasminogen Activator System In Women With Polycystic Ovary Syndrome. Fertil Steril. 1998*
51. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W. *Et Al. Task Force On The Phenotype Of The Polycystic Ovary Syndrome Of The Androgen Excess Andpcos Society. Fertil Steril. 2009*
52. Kirschner MA, Samojik E, Drejda M, Szmaj E, Schneider G, Ertel N, *Androgenestrogenmetabolism In Women With Upper Body Versus Lower Body Obesity, J Clin Endocrinol Metab, 1990*
53. Futterweit W. *Polycystic Ovary Syndrome: Clinical Perspectives And Management. Obstet Gynaecol Surv. 1999.*
54. Crosignani PG, Nicolosi AE. *Polycystic Ovarian Disease: Heritability And Heterogeneity. Hum Reprod Update 2001*
55. Givens, J.R., *Familial Polycystic Ovarian Disease. Endocrinol Metab Clin North Am, 1988.*
56. Govind, A., M.S. Obhrai, And R.N. Clayton, *Polycystic Ovaries Are Inherited As An Autosomal Dominant Trait: Analysis Of 29 Polycystic Ovary Syndrome And 10 Control Families. J Clin Endocrinol Metab, 1999.*
57. Carey, A.H., *Et Al., Evidence For A Single Gene Effect Causing Polycystic Ovaries And Male Pattern Baldness. Clin Endocrinol (Oxf), 1993*
58. Hague, W.M., *Et Al., Familial Polycystic Ovaries: A Genetic Disease? Clin Endocrinol (Oxf), 1988*

59. Vilchiz, V.H., R.E. Norman, And S.C. Chang, *L-Histidine Methyl Ester Dihydrochloride*. *Acta Crystallogr C*, 1996
60. Gharani N., Waterworth D.M., Batty S., Et Al: *Association Of The Steroid Synthesis Gene Cyp11a With Polycystic Ovary Syndrome And Hyperandrogenism*. *Hum Mol Genet* 1997
61. Ehrmann DA. *Polycystic Ovary Syndrome*. *N Engl Jmed* 2005
62. Carmina, E., Et Al., *Extensive Clinical Experience: Relative Prevalence Of Different Androgen Excess Disorders In 950 Women Referred Because Of Clinical Hyperandrogenism*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006
63. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, Jacobs HS. *Polycystic Ovary Syndrome: The Spectrum Of The Disorder In 1741 Patients*. *Human Reproduction*, 1995.
64. Hart R, Hickey M, Franks S. *Definitions, Prevalence And Symptoms Of Polycystic Ovaries And Polycystic Ovary Syndrome*. *Best Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004
65. Azziz, R., Et Al., *Androgen Excess In Women: Experience With Over 1000 Consecutive Patients*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004
66. Bracero N, And Zacur HA, *Polycystic Ovary Syndrome And Hyperprolactinemi*, *Obtetrics And Gynecology Clinics Of North America* , 2001.
67. Williamson K, Gunn AJ, Johnson N, Milsom SR, *The Impact Of Ethnicity On the Presentation Of Polycystic Ovarian Syndrome*, *Australian And Newzealand Journal Of Obstetrics And Gynaecology*, 2001.
68. R Aswini And Sabeena Jayapalan, *Modified Ferriman–Gallwey Score In Hirsutism And Its Association With Metabolic Syndrome*, *Int J Trichology*. 2017
69. Ferriman, D. And J.D. Gallwey, *Clinical Assessment Of Body Hair Growth In Women*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1961

70. Wijeyaratne, C.N., Et Al., *Clinical Manifestations And Insulin Resistance (IR) In Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Among South Asians And Caucasians: Is There A Difference? Clin Endocrinol (Oxf)*, 2002
71. Bilgin O. *Polikistik Over Sendromu Ve Hirşutismus, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Alt Kurulu Yayın Bürosu, İzmir, 139s, 2004.*
72. Futterweit, W., Et Al., *The Prevalence Of Hyperandrogenism In 109 Consecutive Female Patients With Diffuse Alopecia. J Am Acad Dermatol*, 1988
73. Rager KM, Omar HA. *Androgen Excess Disorders In Women: The Severe Insulin-Resistant Hyperandrogenic Syndrome, HAIR-AN. Scientificworldjournal. 2006*
74. Azziz R, Sanchez LA, Knochenhauer ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC. *Androgen Excess In Women: Experience With Over 1000 Consecutivepatients. J Clin Endocrinol Metab*, 89: 453–62, 2004.
75. Kaya H, Desdicioğlu R. *Polikistik Over Sendromu. Nedim Çicek Edt. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi. Güneş Kitapevi, 2006.*
76. Kousta E, White DM, Cela E, Et Al. *The Prevalence Of Polycystic Ovaries In Women With Infertility. Hum Reprod* 1999
77. Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürgan T, Önderoğlu L, Yaralı H, Yüce K (Editörler). *Temel Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi. 2. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008*
78. Evans DJ, Hoffmann RG, Kalkhoff RK. *Relationship Of Androgenic Activityto Body Fat Topography, Fat Cell Morphology, And Metabolic Aberrations Inpremenopausal Women. J Clin Endocrinol Metab. , 1983.*
79. Balen AH, Tan SL, Jacobs HS. *Hypersecretion Of Luteinising Hormone: A significant Cause Of Infertility And Miscarriage. BJOG , 1993.*
80. Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. *Long Term Morbidity Andmortality Of Overweight Adolescents: A Follow-Up Of The Harvard Growth Study Of 1922to 1935.New Engl. J Med. 1992*

81. WHO Expert Consultation. *Appropriate Body-Mass Index For Asian Populations And Its Implications For Policy And Intervention Strategies. The Lancet, 2004*
82. ACOG Practice Bulletin No. 194: *Polycystic Ovary Syndrome. Obstetrics And Gynecology. 2018*
83. Fr DD, Tarlatzis R. *Revised 2003 Consensus On Diagnostic Criteria And Long-Term Health Risks Related To Polycystic Ovary Syndrome. Fertility And Sterility. 2004*
84. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. *Polycystic Ovary Syndrome. The Lancet. 2007*
85. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. *Evidence For Distinctive And Intrinsic Defects In Insulin Action In Polycystic Ovary Syndrome. Diabetes. 1992*
86. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R, Et Al. *Consensus On Women's Health Aspects Of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. Fertil Steril. 2012*
87. Panidis D, Skiadopoulos S, Rousso D, Ioannides D, Panidou E. *Association Of Acanthosis Nigricans With Insulin Resistance In Patients With Polycystic Ovary Syndrome. British Journal Of Dermatology. 1995*
88. Barbara L. Hoffman MJOS, MD Karen D. Bradshaw, MD Lisa M. Halvorson, MD Joseph L. Schaffer, MD Marlene M. Corton, MD. *Polycystic Ovarian Syndrom And Hyperandrogenism. 3 Ed2016.*
89. Banaszewska B, Duleba AJ, Spaczynski RZ, Pawelczyk L. *Lipids In Polycystic Ovary Syndrome: Role Of Hyperinsulinemia And Effects Of Metformin. American Journal Of Obstetrics And Gynecology. 2006*
90. Legro RS, Kuneselman AR, Dunaif A. *Prevalence And Predictors Of Dyslipidemia In Women With Polycystic Ovary Syndrome. The American Journal Of Medicine. 2001*
91. Dahlgren E, Janson P, Johansson S, Lapidus L, Oden A. *Polycystic Ovary Syndrome And Risk For Myocardial Infarction: Evaluated From A Risk Factor Model*

Based On A Prospective Population Study Of Women. Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica. 1992

92. *Schneider JG, Tompkins C, Blumenthal RS, Mora S. The Metabolic Syndrome In Women. Cardiology In Review. 2006*

93. *Dokras A, Bochner M, Hollinrake E, Markham S, Vanvoorhis B, Jagasia DH. Screening Women With Polycystic Ovary Syndrome For Metabolic Syndrome. Obstetrics & Gynecology. 2005*

94. *Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P. Continuing Metformin Throughout Pregnancy In Women With Polycystic Ovary Syndrome Appears To Safely Reduce First-Trimester Spontaneous Abortion: A Pilot Study. Fertil Steril. 2001*

95. *Fogel RB, Malhotra A, Pillar G, Pittman SD, Dunaif A, White DP. Increased Prevalence Of Obstructive Sleep Apnea Syndrome In Obese Women With Polycystic Ovary Syndrome. The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2001*

96. *Nitsche K, Ehrmann DA. Obstructive Sleep Apnea And Metabolic Dysfunction In Polycystic Ovary Syndrome. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2010*

97. *Coulam CB, Annegers JF, Kranz JS. Chronic Anovulation Syndrome And Associated Neoplasia. Obstetrics And Gynecology. 1983*

98. *Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer Statistics, 2014. CA: A Cancer Journal For Clinicians. 2014*

99. *Sweet MG, Schmidt-Dalton TA, Weiss PM, Madsen KP. Evaluation And Management Of Abnormal Uterine Bleeding In Premenopausal Women. American Family Physician. 2012*

100. *Hull M. Epidemiology Of Infertility And Polycystic Ovarian Disease: Endocrinological And Demographic Studies. Gynecological Endocrinology. 1987*

101. *ACOG Practice Bulletin. Management Of Infertility Caused By Ovulatory Dysfunction. Number 34, February 2002. American College Of Obstetricians And Gynecologists. International Journal Of Gynaecology And Obstetrics: The Official Organ Of The International .*

102. ŞİŞMANOĞLU A, BAYSAL B. *Polikistik Over Sendromlu İnfertil Hastalarda Tedavi Seçenekleri*. 2017.
103. Homburg R. *3 Adverse Effects Of Luteinizing Hormone On Fertility: Fact Or Fantasy*. *Baillière's Clinical Obstetrics And Gynaecology*. 1998
104. Clifford K, Rai R, Watson H, Franks S, Regan L. *Does Suppressing Luteinising Hormone Secretion Reduce The Miscarriage Rate? Results Of A Randomised Controlled Trial*. *BMJ (Clinical Research Ed)*. 1996
105. Boomsma C, Eijkemans M, Hughes E, Visser G, Fauser B, Macklon N. *A Meta-Analysis Of Pregnancy Outcomes In Women With Polycystic Ovary Syndrome*. *Human Reproduction Update*. 2006
106. Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA, Nestler JE. *Effects Of Metformin On Early Pregnancy Loss In The Polycystic Ovary Syndrome*. *The Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism*. 2002
107. Palomba S, Falbo A, Orio Jr F, Zullo F. *Effect Of Preconceptional Metformin On Abortion Risk In Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review And Meta-Analysis Of Randomized Controlled Trials*. *Fertility And Sterility*. 2009
108. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. *Increased Prevalence Of Anxiety Symptoms In Women With Polycystic Ovary Syndrome: Systematic Review And Meta-Analysis*. *Fertility And Sterility*. 2012
109. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. *C-Reactive Protein, Interleukin 6, And Risk Of Developing Type 2 Diabetes Mellitus*. *Jama*. 2001
110. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. *Low Grade Chronic İnflammation In Women With Polycystic Ovarian Syndrome*. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001
111. Boulman N, Levy Y, Leiba R, Shachar S, Linn R, Zinder O, Et Al. *Increased C-Reactive Protein Levels In The Polycystic Ovary Syndrome: A Marker Of Cardiovascular Disease*. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004
112. Tarkun I, Arslan Bnc, Canturk Z, Turemen E, ŞahiN T, Duman C. *Endothelial Dysfunction In Young Women With Polycystic Ovary Syndrome: Relationship With*

Insulin Resistance And Lowgrade Chronic Inflammation. The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolis.

113. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M, San Millán JL. *The Molecular-Genetic Basis Of Functional Hyperandrogenism And The Polycystic Ovary Syndrome. Endocrine Reviews.* 2005

114. Orio Jr F, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanová L, Et Al. *The Increase Of Leukocytes As A New Putative Marker Of Low-Grade Chronic Inflammation And Early Cardiovascular Risk In Polycystic Ovary Syndrome. The Journal Of Clinical Endocr.*

115. Gonzalez F, Thusu K, Abdel-Rahman E, Prabhala A, Tomani M, Dandona P. *Elevated Serum Levels Of Tumor Necrosis Factor Alpha In Normal-Weight Women With Polycystic Ovary Syndrome. Metabolism-Clinical And Experimental.* 1999

116. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. *Direct Proinflammatory Effect Of C-Reactive Protein On Human Endothelial Cells. Circulation.* 2000

117. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink G-J, Et Al. *Creactive Protein As A Cardiovascular Risk Factor: More Than An Epiphenomenon? Circulation.* 1999

118. Escobar-Morreale Hcf, Calvo RM, Sancho J, San Millán JL. *TNF-A And Hyperandrogenism: A Clinical, Biochemical, And Molecular Genetic Study. The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2001

119. Escobar-Morreale HF, Calvo RM, Villuendas G, Sancho J, San Millán JL. *Association Of Polymorphisms In The Interleukin 6 Receptor Complex With Obesity And Hyperandrogenism. Obesity Research.* 2003

120. Mohlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Et Al. *The Polycystic Ovary Syndrome Per Se Is Not Associated With Increased Chronic Inflammation. Eur J Endocrinol.* 2004

121. Lakhani K, Constantinovici N, Purcell W, Fernando R, Hardiman P. *Internal Carotid-Artery Response To 5% Carbon Dioxide In Women With Polycystic Ovaries. The Lancet.* 2000

122. Mather KJ, Verma S, Corenblum B, Anderson TJ. Normal Endothelial Function Despite Insulin Resistance In Healthy Women With The Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000
123. Williams 2016.
124. Huber-Buchholz, Carey, Norman, & Metabolism, 1999.
125. Bagis Et Al., 2002.
126. Pasquali, Gambineri, Pagotto, & Gynaecology, 2006.
127. Tarkun Et Al., 2005.
128. Freitas C, Larrivee B., Eichmann A. Netrins And UNC5 Receptors In Angiogenesis. *Angiogenesis* 2008
129. Ishii N, Wadsworth WG, Stern BD, Culotti JG, Hedgecock EM. UNC-6, A Lamininrelated Protein, Guides Cell And Pioneer Axon Migrations In *C. Elegans*. *Neuron* 1992
130. Basnakian AG. Netrin-1: A Potential Universal Biomarker For Acute Kidney Injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008
131. Sherwin C, Broadbent R, Young S, Worth J, Mccaffrey F, Medicott NJ, Et Al. Utility Of Interleukin-12 And Interleukin-10 In Comparison With Other Cytokines And Acute-phase Reactants In The Diagnosis Of Neonatal Sepsis. *The American Journal Of Perinatology*.
132. Engel A, Mack E, Kern P, Kern W. An Analysis Of Interleukin-8, Interleukin-6 And Creactive Protein Serum Concentrations To Predict Fever, Gram-Negative Bacteremia And Complicated Infection In Neutropenic Cancer Patients. *Infection*. 1998
133. Yin Y, Sanes JR, Miner JH. Identification And Expression Of Mouse Netrin-4. *Mech Dev* 2000
134. Nakashiba T, Ikeda T, Nishimura S, Tashiro K, Honjo T, Culotti JG, Itohara S. Netrin1: A Novel Glycosyl Phosphatidylinositol-Linked Mammalian Netrin That Is Functionally Divergent From Classical Netrins. *J Neurosci* 2000

135. Barallobre MJ, Pascual M, Del Río JA, Soriano E. *The Netrin Family Of Guidance Factors: Emphasis On Netrin-1 Signalling. Brain Research Reviews* 2005
136. Rajasekharan S, Kennedy TE. *The Netrin Protein Family. Genome Biology* 2009
137. Han Y, Shao Y, Lin Z, Qu Y-L, Wang H, Zhou Y, Ve Ark. *Netrin-1 Simultaneously Suppresses Corneal Inflammation And Neovascularization. Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2012
138. Livesey F. *Netrins And Netrin Receptors* ID="†" ID="†" Review. *Cellular And Molecular Life Sciences CMLS* 1999
139. Sugimoto Y, Taniguchi M, Yagi T, Akagi Y, Nojyo Y, Tamamaki N. *Guidance Of Glial Precursor Cell Migration By Secreted Cues In The Developing Optic Nerve. Development (Cambridge, England)* 2001
140. Livesey FJ, Hunt SP. *Netrin And Netrin Receptor Expression In The Embryonic Mammalian Nervous System Suggest Roles In Retinal, Striatal, Nigral, And Cerebellar Development. Molecular And Cellular Neurosciences* 1997
141. Shatzmiller RA, Goldman JS, Simard-Emond L, Rymar V, Manitt C, Sadikot AF, Kennedy TE. *Graded Expression Of Netrin-1 By Specific Neuronal Subtypes In The Adult Mammalian Striatum. Neuroscience* 2008
142. Mehlen P, Llambi F. *Role Of Netrin-1 And Netrin-1 Dependence Receptors In Colorectal Cancers. British Journal Of Cancer*, 2005
143. Dakouane-Giudicelli M, Duboucher C, Fortemps J, Et Al. *Characterization And Expression Of Netrin-1 And Its Receptors UNC5B And DCC In Human Placenta. Journal Of Histochemistry + Cytochemistry* 2010
144. Dakouane-Giudicelli M, Duboucher C, Fortemps J Et Al. *Identification And Localization Of Netrin-4 And Neogenin In Human First Trimester And Term Placenta. Placenta*, 2012
145. Kennedy TE. *Cellular Mechanisms Of Netrin Function: Long-Range And Shortrange Actions. Biochemistry And Cell Biology* 2000

146. Ranganathan PV, Jayakumar C, Mohamed R, Dong Z, Ramesh G. *Netrin-1 Regulates The Inflammatory Response Of Neutrophils And Macrophages, And Suppresses Ischemic Acute Kidney Injury By .*
147. Carol M Aherne 1 , Colm B Collins, Joanne C Masterson, Marco Tizzano, Theresa A Boyle Et All. *Neuronal Guidance Molecule Netrin-1 Attenuates Inflammatory Cell Trafficking During Acute Experimental Colitis. Gut. 2012*
148. Scharl M, Mwinyi J, Fischbeck A, Leucht K, Eloranta JJ, Arikkat J, Truninger K. *Crohn's Disease-Associated Polymorphism Within The PTPN2 Gene Affects Muramyl dipeptide-Induced Cytokine Secretion And Autophagy. Inflammatory Bowel Diseases, 2012*
149. Morote-Garcia JC, Rosenberger P, Nivillac NM, Coe IR, Eltzschig HK. *Hypoxia-inducible Factor-Dependent Repression Of Equilibrative Nucleoside Transporter 2 Attenuates Mucosal Inflammation During Intestinal Hypoxia. Gastroenterology, 2009*
150. Moore SW, Tessier-Lavigne M, Kennedy TE. *Netrins And Their Receptors. In Axon Growth And Guidance (Pp. 17-31). Springer, New York, NY.2007.*
151. Synnestvedt GT, Furuta KM, Comerford N, Louis J, Karhausen HK, Eltzschig KR, Hansen LF, Thompson SP. *Colgan Ecto-5'-Nucleotidase (CD73) Regulation By Hypoxia-Inducible Factor-1 Mediates Permeability Changes In Intestinal Epithelia J. Clin. Invest, 2002*
152. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. *High Serum Procalcitonin Concentrations In Patients With Sepsis And Infection. Lancet 1993*
153. Joen JS, Ji SM. *Diagnostic Value Of Procalcitonin And CRP In Critically Ill Patients Admitted With Suspected Sepsis. Journal Of Dental Anesthesia And Pain Medicine, 2015*
154. Vasile VC, Chai HS, Abdeldayem D, Et Al. *Elevated Cardiac Troponin T Levels In Critically Ill Patients With Sepsis. Am J Med 2013*
155. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ. *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method For*

Assessing Insulin Sensitivity In Humans. J Clin Endocrinol Metab 85:2402–2410, 2000.

156. *Sheffield JS. Maternal Diabetes Mellitus And Infants Malformations. Obstet Gynecol 2002*

157. *Baynes JW. Role Of Oxidative Stres In Development Of Complications In Diabetes. Diabetes. 1991*

158. *Kavas GÖ. Serbest Radikaller Ve Organizma Üzerine Etkileri, Türkiye Klin. Dergisi, 1989*

159. *Thomas MJ. The Role Of Free Radicals And Antioxidants: How Do We Know That They Are Working?, Critical Reviews In Food Science And Nutrition, 1995*

160. *Karafakoğlu YS. Tütün Çalışanlarında Oksidan - Antioksidan Durum. The Medical Journal Of Kocatepe.2004*

161. *Freeman BA, Crapo JD. Biology Of Disease Free Radicals And Tissue Injury. Lab. Invest., 1982*

162. *Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayroğlu F, Gültekin F. Blood Lipoperoxidation And Antioxidant Enzymes In Healty Individuals: Relation To Age, Sex, Exercise, Air Polution And Life Habits. J. Environ. Sci. Healty, 1997*

163. *Bagasa HS. Biochemical Aspects Of Free Radicals. Biochem Et Biophysica Acta, 1990*

164. *Kargın F, Fidancı U R. Serbest Oksijen Radikalleri Ve Oksidatif Hasar. Türk Vet. Hek. Derg. 1997*

165. *Akkuş İ. Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya., 1995.*

166. *Fortone JC, Word PA. Role Of Oxygen-Derived Free Radicals And Metabolites In Leucoyte Dependent İnflammatory Reaction, Am. J. Pathol., 1982*

167. *Kalyanamaran B, Perez E, Mason R P. Spin Trapping And Direct Electron Spin Resonance İnvestigations Of The Redox Metabolism Of Guinone Anti-Cancer Drugs. Biochim. Biophys. Acta., 1980*

168. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie. *Pesticides And Oxidative Stres: A Review. Med. Sci. Monit.*, 2004
169. Wang,L.H., Wu, S.H., Hou, L.A., Ma, H., Tsai, L.Y. *Superoxide Anion Radical,Lipid Peroxides And Antioxidant Status In The Blood Of Patients With Breast Cancer.Clinica Chimica Acta*, 2005
170. Stahl, M., Bouw, R., Jackson, A., Pay, V.*Human. Microdialysis. Curr Pharm Biotechnol*, 2002
171. Hinder RA, Stein HJ. *Oxygen-Derived Free Radicals. Arch. Surg.* 1991
172. Tanırgan G., Koldaş M., Uras F. *Serbest Radikaller: An İntroduction To Free Radical Biochemistry. Haseki Tıp Bülteni.*, 1994
173. Kılınç K., Kılınç A. *Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Temel Tıptan Kliniğe. Hacettepe Tıp Derg.*, 2002
174. Farber JL. *Mechanisms Of Cell İnjury By Activated Oxygen Species. Environ Health Perspect*, 1994
175. Karabulut Bay A. *Hepatit B'li Hastalarda Eritrosit Ve Lenfosit Antioksidan Enzimler, Nitrik Oksit Düzeyleri Ve Plazma Stokinleri. Doktora Tezi, Malatya. 2001.*
176. Jialal, I., And Fuller, C. J., *Oxidized LDL And Antioxidants. Clin Cardiol. Apr;* 1993
177. Yanbeyi, S., *Aspirin Ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz Ve Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 1999*
178. Dizdaroğlu M. *Chemical Determination Of Free Radical-Induced Damage To DNA. J Free Radical Biology & Medicine.* 1993
179. Fırat, S., *Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutatyon , Glutatyon Peroksidaz, Glutatyon- S-Transferaz Düzeyleri Ve N-Asetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 1997*

180. Uysal, M., Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri Ve Organizmada Prooksidanantioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. Klinik Gelişim II, 1998.
181. Wheeler, C. R., And Salzman, J. A., Automated Assays For Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase And Glutathione Reductase Activity. Analytical Biochemistry., 1990
182. Southorn P, Powis G. Free Radical In Medecine I. Chemical Nature And Bidological Reactions. J. Mayo Clin. Proc. 1988
183. Tappel AL, Dillard JC. İnvivo Lipid Peroxidation Measurement Via Exhaled Pentane And Protection By Vitamin E. J. Federation Proceedings 1981
184. Cheeseman KH, Slater TF. An İntroduction To Free Radical Biochemistry, Br. Med. Bull.1993
185. Gutteridge JM. Lipid Peroxidation And Antioxidants As Biomarkers Of Tissue Damage. Clin. Chem 1995
186. Pal Yu B., Cellular Defenses Againts Damage From Reactive Oxygen Species . Physiol Rev., 1994
187. Mead, J. F., Free Radical Mechanism Of Lipid Damage And Consequence For Cellular Membranes. In Pıyor WA, Ed Free Radicals And Biology. New York., 1989
188. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. And Rodwell, V.W., Harper's Biochemistry. 24th Ed., 1996. .
189. Tekkes, Y., Streptozotisin İle Diabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin Ve E Vitamininin Dokularda Lipid Peroksidasyonu Ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
190. Craig Ve Aust, E.T., Aust, S.D., Free Radicals And Environmental Toxins. Annals Of Emergency Medicine, 1986
191. Nair, V., Cooper, Cs., Vietti, De., Turner, Ga., The Chemistry Of Lipid Peroxidation Metabolites: Crosslinking Reactions Of Malondialdehyde. Lipids. Jan., 1996

192. Rice-Evans, C. A., Miller, N.J., Paganga, G., *Structure-Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. Free Radic Biol Med*,. 1996
193. Ripine JE, Bast A, Lankharst. *Lipids I, And The Oxidative Strees Study Graup: Oxidative Strees İn Chronic Obstructive Pulmorary Disease. J. Respir Crit Care Med.* 1997
194. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. *Modification Of Plasma Proteins By Cigarette Smoke As Measured By Protein Carbonyl Formation. J. Biochem* 1992
195. Mccord JM. *Human Disease, Free Radicals And The Oxidant/Antioxidant Balance. Clin Biochem* 1993
196. Halliwell, B., Gutteridge, J. M., *Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, And Antioxidant Therapy. Lancet*, 1984
197. Halliwell, B., *Free Radicals, Antioxidants, And Human Disease: Curiosity, Cause, Or Consequence? Lancet.*, 1994
198. Burçak, G., Andican, G., *Oxidative DNA Damage And Aging. Cerrahpaşa J Med*, 2004
199. Oğuz, M., *Oksijen Radikalleri. C.Ü.Tıp Fak.Der.*, 1990
200. Dizdaroglu, M., *Oxidative Damage To DNA İn Mammalian Chromatin. Mutat Res*, 1992
201. Bonnefont Rousselot D., Bastard, J. P, Jaudon, M. C., Ve Delattre, J. *Consequences Of The Diabetic Status On The Oxidant/Antioxidant Balance. Diabetes And Metabolism*, 2000
202. Robertson, R. P., Harmon, J., Tran, P. O., Tanaka, Y. Ve Takahashi, H., *Glucose Toxicity İn Cell: Type II Diabetes, Good Radicals Gone Bad, And The Glutathione Connection. Diabetes*, 2003
203. Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Cees, J. A. D., *Oxidants And Antioxidants:State Of The Art. The American Journal Of Medicine*, 1997

204. Ames, B.N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., *Oxidants, Antioxidants, And The Degenerative Diseases Of Aging. Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1993
205. Halliwell, B., Gutteridge, J. M., *The Antioxidants Of Human Extracellular Fluids. Arch Biochem Biophys.*, 1990
206. Byung, P. Y., *Cellular Defenses Against Damage From Reactive Species. Physiological Reviews*, 1994
207. Maccord, J. M. Ve Fridowich, I., *Superoxide Dismutase, An Enzymic Function Of Erythrocyte. J. Biol. Chem.*, 1969
208. İsmail D, Ozlem O. *Diabetes Mellitus Ve Gebelik. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi. 1. Baskı. Güneş Kitabevi: 2006*
209. Fridovich, I., *Superoxide Dismutases. Annu Rev Biochem*, 1975
210. Matsuo, M., And Kaneko, T., *The Chemistry Of Reactive Oxygen Species And Related Free Radicals, Free Radicals In Exercise And Aging (Radak, Z., Eds), Human Kinetics, USA*
211. Deby, C. And Goutier, R., *New Perspectives On The Biochemistry Of Superoxide Anion And The Efficiency Of Superoxide Dismutases. Biochem Pharmacol*, 1990
212. Leeuwenburg, C., And L. L. J., *Alteration Of Glutathione And Antioxidant Status With Exercise In Unfed And Refed Rats. J. Nutr*, 1990
213. Breckta, A., Greenstock, C. L., Tambo, M., *Advances On Oxygen Radicals, And Radioprotectors: Mavelli, I: Ratilio, G: Enzymatic Protection Against Intracellular Oxidative Processes.*, 1984
214. Tudhope, G.R., *Red Cell Catalase In Health And In Disease , With Reference To The Enzyme Activity In Anaemia. Clin. Sci*, 1967
215. Palmer, T., *Understanding Enzymes.*, 1990.
216. Halliwell, B., Gutteridge, J. M., *Production Of Hydroxyl Radicals In Living Systems. Free Radicals In Biology And Medicine. Oxford. Clarendon Press*, 1989

217. Erel O. A Novel Automated Direct Measurement Method For Total Antioxidant Capacity Using A New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. *Clinical Biochemistry*, 2004
218. Rachmilewitz, D., Karmeli, F., Okan, E., Samuni, A., A Novel Antiulcerogenic Stable Radical Prevents Gastric Mucosal Lesions In Rats. *Gut*, 1994
219. Ding L, Z., Liu, Z., Zhu, G., Luo, D., Zhao And J. Ni., Biochemical Characterization Of Selenium-Containing Catalytic Antibody As A Cytosolic Glutathione Peroxidase Mimic. *Biochem J*, 1998
220. Yan, H. And J. J. Harding., Glycation-Induced Inactivation And Loss Of Antigenicity Of Catalase And Superoxide Dismutase. *Biochem J*, 1997
221. Ketterer, B., Tan, K.H., Meyer, D.J., Coles, B., Glutathione Transferases: A Possible Role In The Detoxification Of DNA And Lipid Hydroperoxides. In: Mantle, T.J., Pickett, C.B., Hayes, J.D., Eds. *Glutathione S-Transferases And Carcinogenesis*.
222. Mills, G.C., Hemoglobin Catabolism. I. Glutathione Peroxidase, An Erythrocyte Enzyme Which Protects Hemoglobin From Oxidative Breakdown. *J. Biol. Chem*, 1957
223. Mannervik, B., *Glutathione Peroxidase. Methods Enzymol*, 1985
224. Peters, W.H., Purification And Partial Characterization Of Human Intestinal Glutathione S-Transferases. *Biochem. Pharmacol.*, 1988
225. Vermeulen, N.P.E., Analysis Of Mercapturic Acids As A Tool In Biotransformation, Biomonitoring And Toxicological Studies. "Glutathione-S-Transferases And Drug Resistance" Taylor And Francis London, 1990
226. Carlberg I., Mannervik, B., *Glutathione Reductase. Methods Enzyme.*, 1985
227. Akyol, Ö., Şizofrenide Oksidatif Stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, Cilt 5, Ek Sayı 1.
228. Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N., Yagi, K., Cloning And Chromosomal Mapping Of The Human Nonfunctional Gene For L-Gulonolactone Oxidase, The Enzyme For Ascorbic Acid Biosynthesis Missing In Man. *J Biol Chem*, 1994

229. Nishikimi, M., Yagi, K., *Biochemistry And Molecular Biology Of Ascorbic Acid Biosynthesis. Subcell Biochem*, 1996
230. Dündar, Y., Aslan, R., *Oksidan Antioksidan Denge Ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 1999
231. Meister, A, Anderson, M.E., *Glutathione. Annu Revbiochem*, 1983
232. Meister, A., *Glutathione Metabolism. Methods İnenzymology*, 1995
233. Ji, L. L., *Oxidative Stress During Exercise: İmplications Of Antioxidant Nutrients. Free Radic. Biol. Med.*, 1995
234. Flohe, L., Loschen,G., *Mechanism Of The Therapeutic Effect Of Exogenous Superoxide Dismutase:Findings And Prospects. Eur J Rheumatol Inflamm.*, 1981
235. Lew, A. S., Ganz, W., *Thrombolysis During Acute Myocardial İnfarction. Acute Care.*, 1985
236. Halliwell B. *Reactive Oxigen Species İn Living Systems: Source, Biochemistry And Role İn Human Disease. J. The American Journal Of Medicine.* 1991
237. Berger SJ, Gosky D, Zberowska E. *Sensitive Enzymatic Cycling İn Diabetes. J. Diabetes* 1991
238. Burton G, Traber M. *Vitamin E: Antioxidant Activity Biokinetics And Bioavailability. J. Annu. Rev. Nutr.* 1990
239. Pabo'n A, Carmona J, Burgos LC, Blair S. *Oxidative Stress İn Patients With Noncomplicated Malaria. J. Clinical Biochemistry* 2003
240. Ladislav, F , Vera, P., Karel, Tulika And Karel, Volkab, *Current Analytical Chemistry*, 2005
241. Mortensen, A., Skibsted, L. H, Truscott, T. G, *The İnteraction Of Dietary Carotenoids With Radical Species. Arch Biochem Biophys*, 2001
242. El-Agamey, A., Lowe, G. M., Mcgarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., *Carotenoid Radical Chemistry And Antioxidant/Pro-Oxidant Properties. Archbiochem Biophys*, 2004

243. Yazıcı, C., Köse, K., *Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2004
244. Yim Ve Ark . 2018 .
245. Liu Et Al . (2016) .
246. Ay E, Marakoglu K, Kizmaz M, Unlu A. *Evaluation Of Netrin-1 Levels And Albuminuria İn Patients With Diabetes. J Clin Lab Anal. (2016).*
247. De Breuck S, Lardon J, Rooman I, Bouwens L. *Netrin-1 Expression İn Fetal And Regenerating Rat Pancreas And İts Effect On The Migration Of Human Pancreatic Duct And Porcine İslet Precursor Cells. Diabetologia. 2003.*
248. Sharma Ve Ark . 2019 .
249. Ke Ve Diğerleri. 2014 .
250. Toque Ve Diğerleri. 2017.
251. Xing Ve Ark .2017 .
252. Ly Ve Diğerleri . 2005 .
253. DeFronzo RA, Ferrannini E. *Insulin Resistance. A Multifaceted Syndrome Responsible For NIDDM, Obesity, Hypertension, Dyslipidemia, And Atherosclerotic Cardiovascular Disease. Diabetes Care. 1991.*
254. Natura G, Bar KJ, Eitner A, Boettger MK, Richter F, Hensellek S, Ebersberger A, Leuchtweis J, Maruyama T, Hofmann GO Et Al. *Neuronal Prostaglandin E2 Receptor Subtype EP3 Mediates Antinociception During İnflammation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013.*
255. Bloomgarden ZT. *Inflammation And İnsulin Resistance. Diabetes Care,2003.*
256. Kang YM, Kim F, Lee WJ. *Role Of NO/VASP Signaling Pathway Against Obesity-Related İnflammation And İnsulin Resistance. Diabetes.*
257. Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D, Michel T (2006) *The Regulation And Pharmacology Of Endothelial Nitric Oxide Synthase. Annu Rev Pharmacol Toxicol .*

258. Liu C, Ke X, Wang Y, Feng X, Li Q, Zhang Y, Et Al. *The Level Of Netrin-1 Is Decreased In Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus Patients. BMC Endocr Disord. (2016) .*
259. Macut D, Bjekić-Macut J, Savić-Radojević A. *Dyslipidemia And Oxidative Stress In PCOS. Front Horm Res. 2013.*
260. Savic-Radojevic A, Bozic Antic I, Coric V, Et Al. *Effect Of Hyperglycemia And Hyperinsulinemia On Glutathione Peroxidase Activity In Non-Obese Women With Polycystic Ovary Syndrome. Hormones (Athens). 2015.*
261. Macut D, Simic T, Lissounov A, Et Al. *Insulin Resistance In Non-Obese Women With Polycystic Ovary Syndrome: Relation To Byproducts Of Oxidative Stress. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2011.*
262. Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ. *NADPH Oxidase-Mediated Redox Signaling: Roles In Cellular Stress Response, Stress Tolerance, And Tissue Repair. Pharmacol Rev. 2011.*
263. Hayes JD, Strange RC. *Glutathione S-Transferase Polymorphisms And Their Biological Consequences. Pharmacology. 2000.*